

**SANDRA DE SOUSA FERREIRA DIAS**

**RASTREIO SEROLÓGICO DE TOXOPLASMOSE EM  
GATOS DOS CONCELHOS DE OEIRAS E CASCAIS**

**Orientador: Professora Doutorada Margarida Alves**

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

**Departamento de Medicina Veterinária**

**Lisboa**

**2012**

**SANDRA DE SOUSA FERREIRA DIAS**

# **RASTREIO SEROLÓGICO DE TOXOPLASMOSE EM GATOS DOS CONCELHOS DE OEIRAS E CASCAIS**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de  
Mestre em Medicina Veterinária do Curso de Mestrado  
de Medicina Veterinária conferido pela  
Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Orientador: Professora Doutorada Margarida Alves  
Co-orientador: Dr. Carlo Vaudano

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

**Departamento de Medicina Veterinária**

**Lisboa**

**2012**

## **DEDICATÓRIA**

À minha irmã pela amizade e dedicação.

Aos meus pais que tornaram possível um sonho.

## **AGRADECIMENTOS**

À Professora Laurentina Pedroso, Diretora da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias pelo apoio fundamental para a realização deste trabalho.

À minha Orientadora, Margarida Alves, pela disponibilidade na elaboração da dissertação de Mestrado.

Ao meu Co-orientador, Carlo Vaudano por ter aceite coordenar o meu estágio e pela revisão científica do relatório.

À professora Odete Almeida, pelo conhecimento que me transmitiu e pelo tempo dedicado à execução deste trabalho.

À equipa da DNAtch pelo conhecimento e apoio na validação dos resultados.

Ao Professor Mauro Bragança pela ajuda no tratamento estatístico dos resultados.

Aos proprietários dos animais, que tornaram este estudo possível.

Aos colegas de estágio e amigos por me tornarem uma melhor profissional.

## **RASTREIO SEROLÓGICO DE TOXOPLASMOSE EM GATOS DOS CONCELHOS DE OEIRAS E CASCAIS**

### **RESUMO**

A toxoplasmose é uma das parasitoses mais comuns em gatos sendo que a sua seroprevalência mundial varia entre 5,5% e 97,4%. Em Portugal, existem poucos estudos sobre a prevalência da toxoplasmose e, por isso, este estudo tem como objetivo principal contribuir para o conhecimento da seroprevalência de base clínica no nosso país. Para a sua realização, foram colhidas amostras de soro de 63 gatos e recolhidos dados epidemiológicos sobre a idade, a raça, o género, o tipo de alimentação, o acesso ao exterior e o tipo de habitat dos progenitores. As amostras de soro foram analisadas através da técnica de imunofluorescência indireta, tendo sido encontrados 25 gatos seropositivos, correspondendo a uma seroprevalência de base clínica de 41%. O único fator de risco identificado foi o acesso ao exterior. A idade do animal não foi estatisticamente significativa como fator de risco, mas observou-se um aumento da prevalência em animais até aos 6 anos de idade. Os gatos de progenitores com acesso ao exterior, animais de género feminino e com alimentação de risco apresentaram maior número de seropositivos, no entanto, estes resultados não foram estatisticamente significativos.

**Palavras-chave:** Toxoplasmose, *Toxoplasma gondii*, Prevalência, Gato, Zoonose

## **SEROLOGICAL SCREENING OF TOXOPLASMOSIS IN CATS FROM OEIRAS E CASCAIS**

### **ABSTRACT**

Toxoplasmosis is one of the most common parasitic infections in cats and its worldwide prevalence ranges between 5,5% and 97,4%. As in Portugal there are only a few studies on the prevalence of toxoplasmosis, we intended to contribute to the knowledge of its clinical base prevalence in our country. For its accomplishment, serum samples were collected from 63 cats as well as epidemiological data about age, race, gender, type of food, access to outside and parent's habitat type. Serum samples were analyzed by indirect immunofluorescence and 25 cats were found to be positive, corresponding to a clinical base prevalence of 41%. The only risk factor identified was access to the outside. Age was not statistically significant as a risk factor, but an increase in prevalence was observed in animals up to 6 years. Cats with outdoor access parents, females and animals for food risk had the highest number of seropositive, however, these results were not statistically significant.

**KEY WORDS:** Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, Prevalence, Cat, Zoonosis

## LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

Siglas/ Acrónimos	Significado
ALT	Alanine aminotransferase
AST	Aspartate aminotransferase
Bid	Duas vezes ao dia, acrónimo latino de “ bis in die”
BTUB	Beta tubulina, do inglês "Beta Tubulin"
DNA	Ácido desoxirribonucleico, acrónimo anglo-saxónico para “ Deoxyribonucleic Acid”
DT	Teste de Lise, acrónimo anglo-saxónico para “Dye test”
ELISA	Ensaio imunoenzimático, acrónimo anglo-saxónico para “Enzyme-linked immunosorbent assay”
FC	Fixação do Complemento, acrónimo anglo-saxónico “Complement Fixation”
FeLV	Vírus da leucemia felina, acrónimo anglo-saxónico para “Feline leukemia virus”
FIV	Vírus da imunodeficiência felina, acrónimo anglo-saxónico para “Feline immunodeficiency virus”
G	Gauge
GRA6	Antigénio de proteína granular 6, do inglês “Granule antigen protein 6”
IFA	Teste de imunofluorescência indireta, acrónimo anglo-saxónico para “Indirect fluorescent antibody”
IHA	Hemaglutinação indireta, acrónimo anglo-saxónica para “Indirect hemmaglutination”
Kg	Kilograma
LAT	Teste de aglutinação em Látex, acrónimo anglo-saxónica para “ Latex Agglutination test”
MAT	Teste de aglutinação modificado, acrónimo anglo-saxónico para “Modified agglutination test”
NewSAG2	Novo antigénio de superfície 1, do inglês “New surface antigen 1”
PBS	Solução tampão fosfato-salina, acrónimo anglo-saxónico para "phosphate buffer saline".
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase, acrónimo anglo-saxónica para “Polimerase Chain Reaction”
PIF	Peritonite infecciosa felina
PK1	Piruvato cinase 1 , do inglês “Pyruvate kinase 1”
RFLP	Polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição, sigla anglo-saxónica para "Restriction Fragment Length Polymorphism"
Rpm	Rotações por minuto

SAG3	Antigénio de superfície 3, do inglês “Surface antigen 3”
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida

<b>Símbolos</b>	<b>Significado</b>
μl	Microlitro
μm	Micrómetro
Nm	Nanómetro
mg/Kg	Miligrama por quilograma



## ÍNDICE GERAL

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>1.1 História .....</b>	<b>13</b>
<b>1.2 Hospedeiros.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3 Ciclo biológico.....</b>	<b>13</b>
1.3.1 Fase extraintestinal .....	14
1.3.2 Fase intestinal .....	15
1.3.3 Forma congênita.....	16
<b>1.4 Transmissão .....</b>	<b>17</b>
<b>1.5 Resposta imunológica .....</b>	<b>18</b>
1.5.1 Imunidade humoral.....	18
1.5.2 Imunidade celular .....	18
<b>1.6 Genótipos da toxoplasmose .....</b>	<b>19</b>
<b>1.7 Sinais clínicos no gato .....</b>	<b>19</b>
<b>1.8 Diagnóstico .....</b>	<b>20</b>
1.8.1 Imunofluorescência indireta (IFA) .....	21
1.8.2 Ensaio imunoenzimático (ELISA).....	21
1.8.3 Testes de aglutinação .....	21
1.8.4 Fixação do complemento .....	22
1.8.5 Western Blot.....	22
1.8.6 PCR .....	22
1.8.7 Teste de Sabin-Feldman/ Dye test (DT).....	23
<b>1.9 Sensibilidade e especificidade dos métodos serológicos .....</b>	<b>23</b>
<b>1.10 Tratamento .....</b>	<b>24</b>
<b>1.11 Profilaxia .....</b>	<b>24</b>
<b>1.12 Toxoplasmose em humanos .....</b>	<b>24</b>
1.12.1 Aspectos zoonóticos .....	25
<b>1.13 Epidemiologia .....</b>	<b>28</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>35</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>36</b>
<b>3.1 Seleção da população.....</b>	<b>36</b>

3.2	Caracterização da área e da população em estudo.....	36
3.3	Folha informativa.....	36
3.4	Inquérito sobre fatores de risco da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> .....	36
3.5	Recolha de amostras .....	37
3.6	Deteção laboratorial de anticorpos anti- <i>toxoplasma gondii</i> .....	37
3.6.1	Execução do teste.....	37
3.6.2	Interpretação dos resultados.....	38
4.	APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	42
4.1	Prevalência da Toxoplasmose .....	42
4.2	Avaliação dos fatores de risco .....	44
4.2.1	Idade.....	45
4.2.2	Proveniência.....	47
4.2.3	Acesso ao exterior.....	48
4.2.4	Género.....	49
4.2.5	Tipo de alimentação .....	50
4.2.6	Raça .....	51
5.	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....	52
6.	CONCLUSÃO .....	56
7.	BIBLIOGRAFIA.....	59
	APÊNDICE I - INQUÉRITO REALIZADO .....	I
	APÊNDICE II - QUADROS ESTATÍSTICOS .....	III
	APÊNDICE III - LISTAGEM DOS ANIMAIS ESTUDADOS .....	IX

## ÍNDICE DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1 - Sensibilidade e especificidade das técnicas serológicas em gatos. ....	23
Tabela 2 - Prevalência da Toxoplasmose em gatos, em diversos países/cidades. ....	29
Tabela 3 - Seroprevalências em função do grupo etário. ....	45
Tabela 4 - Seroprevalências em função do habitat dos progenitores. ....	47
Tabela 5 - Seroprevalências em função do fator acesso ao exterior. ....	48
Tabela 6 - Seroprevalências para o fator género do paciente. ....	49
Tabela 7 - Seroprevalências em função do tipo de alimentação. ....	50
Tabela 8 - Seroprevalências em função da raça. ....	51
Gráfico 1 - Prevalência de base clínica da Toxoplasmose nos concelhos de Oeiras e Cascais. ....	42
Gráfico 2 - Caracterização da população em estudo, em função da causa de apresentação à consulta. ....	43
Gráfico 3 – Resultados da serologia em função da concomitância com infeção por FIV e FeLV. ....	44
Gráfico 4 - Relação entre o grupo etário e o resultado serológico. ....	46
Gráfico 5 - Relação entre o habitat dos progenitores e o resultado serológico. ....	47
Gráfico 6 - Relação entre o acesso ao exterior e o resultado serológico. ....	48
Gráfico 7 - Relação entre o género e o resultado serológico. ....	49
Gráfico 8 - Relação entre o tipo de alimentação e o resultado serológico. ....	50
Gráfico 9 - Relação entre a raça e o resultado serológico. ....	51

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo biológico de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	16
Figura 2 - Oocisto esporulado observado em exame coprológico – teste de flutuação em açúcar (Elmore <i>et al.</i> , 2010).....	20
Figura 3 - Lâmina do <i>kit</i> do teste FLUOTOXOPLASMA. ....	38
Figura 5 - Resultado positivo pela técnica de IFA. A) x400; B) x100. Original da autora. ....	39
Figura 6 - Resultado negativo à toxoplasmose da técnica IFA (x400). Original da autora....	39
Figura 7 - Fluorescência basal da técnica IFA (x400). Original da autora. ....	40

## **1. INTRODUÇÃO**

A Toxoplasmose é uma doença causada por um parasita, protozoário intracelular obrigatório, denominado *Toxoplasma gondii* (Barr, 2006). O seu nome significa em forma (plasma) de arco (toxó) (Fortes, 2004). É um parasita ubíquo, com distribuição mundial (Fortes, 2004).

### **1.1 História**

A Toxoplasmose foi descrita pela primeira vez, em 1908, por Splendore, num coelho de laboratório em São Paulo, no Brasil, e por Nicolle e Manceaux num roedor norte-africano, *Ctenodactylus gondii* no Instituto Pasteur da Tunísia (Fortes, 2004).

O primeiro caso descrito no Homem aconteceu em 1923, numa criança com 11 meses de idade, que apresentava hidrocefalia e microftalmia (Bowman *et al.*, 2002). Em 1939, Sabin provou que o parasita dos humanos pertencia à mesma espécie que o isolado nos animais, o que aumentou o interesse do estudo da doença (Tenter, *et al.*, 2000).

Em 1951, Otten *et al.* descobriram a importância do cão e de outros animais domésticos como reservatórios do organismo (Corrêa, 1971) e, em 1969, Sheffield e Melton, identificaram oocistos nas fezes de gato, em estado esporulado, comprovando que o gato era, também, um hospedeiro e o principal disseminador do agente para o Homem (Corrêa, 1971).

### **1.2 Hospedeiros**

*Toxoplasma gondii* tem vários tipos de hospedeiros: hospedeiros intermediários, definitivos e de transporte. Os hospedeiros intermediários são todos os mamíferos e aves, incluindo o homem e o gato, sendo que os elementos da última família, os felídeos, são os únicos animais a libertarem formas infetantes para o ambiente (Jones, *et al.*, 1997; Bowman *et al.*, 2002). Os hospedeiros definitivos são o gato doméstico e todos os felídeos. Os hospedeiros de transporte são as baratas, minhocas e moscas que ajudam a disseminar a forma infetante no solo (Bowman *et al.*, 2002).

### **1.3 Ciclo biológico**

A reprodução do parasita apresenta uma fase sexuada, chamada de gametogonia, uma fase assexuada, denominada de esquizogonia e uma fase de esporulação (figura 1) (Urquhart, *et al.*, 1998).

O hospedeiro definitivo apresenta a fase intestinal e extraintestinal, sendo o único capaz de produzir oocistos; o hospedeiro intermediário só desenvolve a fase extraintestinal (Urquhart, *et al.*, 1998).

### **1.3.1 Fase extraintestinal**

Após a ingestão do oocisto esporulado, os esporozoítos que constituem os esporocístos, libertam-se e penetram no epitélio intestinal do hospedeiro, disseminando-se por via sanguínea (veia porta) e via linfática, como taquizoítos. Ao entrar numa célula, o taquizoito multiplica-se num vacúolo por via assexuada, processo denominado por endodiogénia, originando entre oito a dezasseis taquizoítos, medindo cada um 6.0-8.0 µm (Taylor *et al.*, 2007). A célula, ao possuir uma grande quantidade de taquizoítos, pode romper-se, libertando estas formas que vão afetar novas células – fase aguda (Urquhart, *et al.*, 1998).

A formação de anticorpos contra o parasita limita a capacidade de invasão dos taquizoítos o que irá proporcionar o desenvolvimento de um quisto, constituído por bradizoítos – fase crónica e latente. Estes quistos podem provocar o aparecimento de focos de necrose em órgãos como o pulmão, fígado, músculo estriado, placenta (Taylor *et al.*, 2007), rim e cérebro e, quando formados, permanecem viáveis até ao fim da vida do hospedeiro (Bowman, 2009). Foram observados quistos teciduais em animais após três dias de infeção (Fortes, 2004). Caso o sistema imunitário fique comprometido, o quisto rutura e liberta os bradizoítos que se ativam e se transformam em taquizoítos (Urquhart, *et al.*, 1998).

### 1.3.2 Fase intestinal

Após a ingestão do quisto, a sua parede é digerida no estômago do hospedeiro provocando a libertação dos bradizoitos no intestino (Fortes, 2004).

Os bradizoitos multiplicam-se de forma mais lenta e menos invasiva do que os taquizoitos e são mais resistentes à destruição por enzimas proteolíticas, como a pepsina (Fortes, 2004; Bowman, 2009).

Os bradizoitos ao invadirem as células epiteliais do intestino delgado, principalmente no íleo, iniciam o ciclo de esquizogonia e gametogonia que vai originar o oocisto não esporulado que é libertado no lúmen intestinal e excretado nas fezes dos gatos e outros felídeos (figura 1). A eliminação dos oocistos verifica-se durante uma a duas semanas (Fortes, 2004).

Os oocistos libertados não são esporulados e, por isso, não são infetantes. A esporulação ocorre no ambiente e demora um a cinco dias para acontecer; é nesta etapa que se tornam infetantes para o hospedeiro (Lappin, 2006). Os oocistos esporulados são relativamente resistentes às condições ambientais adversas, ao contrário dos oocistos não esporulados (Bowman *et al.*, 2002). Uma nova excreção pode ocorrer no caso de imunossupressão causada por agentes infecciosos como os vírus da Leucemia felina (FeLV), da Imunodeficiência felina (FIV) ou da Peritonite infecciosa felina (PIF) (Bowman *et al.*, 2002), o protozoário *Isospora felis* (Bowman, 2009), ou por administração de corticosteroides em doses elevadas como 10 a 80 mg/Kg de prednisolona ou 10 a 80 mg/Kg de metilprednisolona (Bowman *et al.*, 2002; Chandler *et al.*, 2004). No entanto, estas doses raramente são utilizadas na prática clínica (Bowman *et al.*, 2002; Chandler *et al.*, 2004), sendo que as doses normais são de 0,2 a 3 mg/Kg de prednisolona e de 1 a 5,5 mg/Kg de metilprednisolona (Allen, 2005).

### 1.3.3 Forma congênita

Esta forma ocorre através da passagem de taquizoitos da placenta para o feto ou pela ativação de quistos de bradizoitos durante a gestação (Taylor *et al.*, 2007). Pode ainda, acontecer pela lactação ou no período perinatal (Powell, *et al.*, 2001).

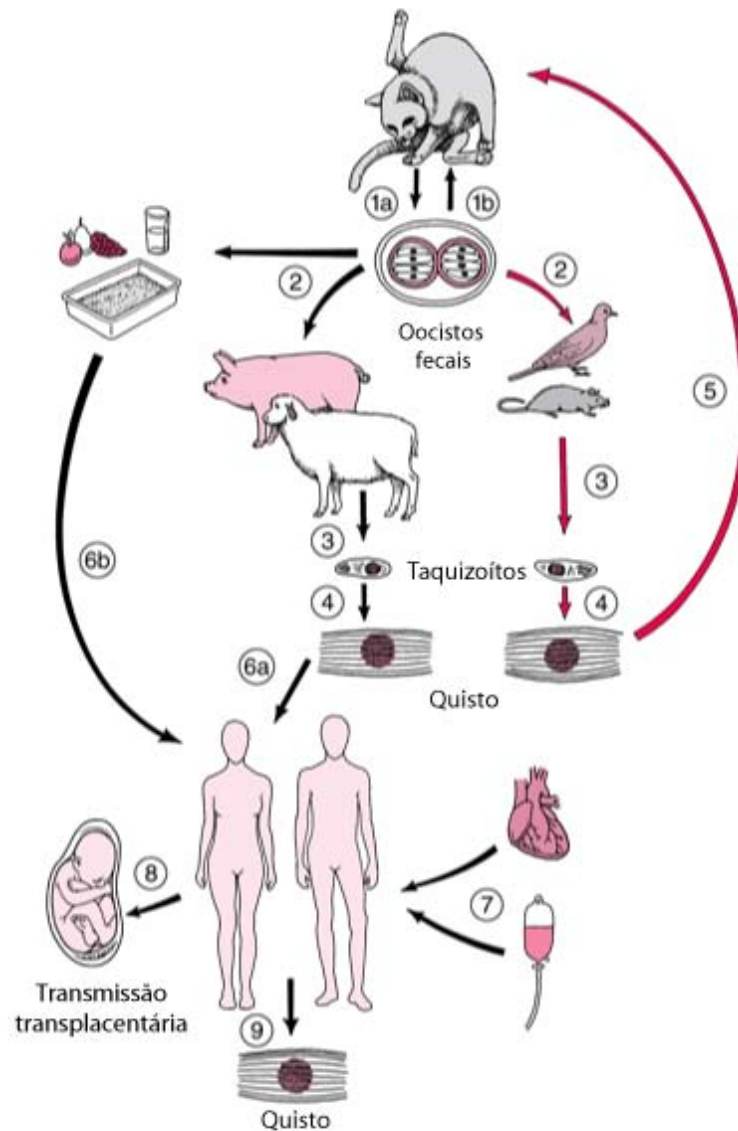


Figura 1 - Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii*. 1a) Oocistos eliminados nas fezes, durante 1 a 2 semanas, levam 1 a 5 dias para se tornar em infetantes; 1b) Gatos são reinfetados pela ingestão de oocistos esporulados; 2) Areia, água, vegetais e gato contaminado com oocistos. Hospedeiros intermediários (como aves, roedores, animais criados para consumo humano) tornam-se infetados após ingestão de materiais contaminados; 3) Oocistos transformam-se em taquizoitos após a ingestão; 4) Os taquizoitos disseminam-se pelo organismo e formam-se



quistos no tecido muscular e no sistema nervoso; 5) Gatos infetados após o consumo de hospedeiros intermediários, possuindo quistos teciduais; 6a) Os seres humanos podem ser infetados pela ingestão de carne mal cozinhada, 6b) pela ingestão de alimentos, água contaminada com fezes de gato, ao entrar em contacto com solo contaminado ou com as fezes de um gato de estimação; 7) A infecção humana também pode ocorrer através da transfusão de sangue ou transplante de órgãos, mas é um meio de transmissão raro; 8) A transmissão transplacentária; 9) No Homem, os parasitas vão formar quistos nos tecidos, principalmente no músculo-esquelético, miocárdio, no cérebro e globo ocular. Estes quistos podem permanecer durante toda a vida do hospedeiro e pode reativar quando o indivíduo se encontra imunocomprometido (Pearson, 2009).

A infecção por *Toxoplasma gondii* nos roedores altera o seu comportamento natural, convertendo a aversão inata às feromonas do seu predador natural, o gato, em atração. Assim, aumenta a sua probabilidade de ser presa e de infetar o hospedeiro definitivo, potenciando a eficiência de transmissão e a fase sexuada do organismo. Estes efeitos estão associados a uma tendência para a formação de quistos ser mais abundante na zona da amígdala medial e basolateral, envolvida nos comportamentos inatos (Vyas, *et al.*, 2007; Lappin, 2010; Vyas, *et al.*, 2010).

#### 1.4 Transmissão

Nos hospedeiros definitivo e intermediário a transmissão pode ocorrer por três formas:

- **Ingestão de oocistos esporulados** presentes no ambiente (água ou alimentos), após libertação pelas fezes de outros gatos infetados. O contágio raramente ocorre pelo contacto direto com as fezes do gato (Lappin, 2006).
- **Ingestão de formas infectantes** (taquizoitos e bradizoitos) através da predação ou da ingestão de carne crua ou mal passada. A ingestão de bradizoitos é a mais importante forma de infecção e resulta na excreção de uma quantidade de oocistos maior do que a ingestão de qualquer outro estadio (Taylor *et al.*, 2007).
- **Passagem de taquizoitos** da placenta para o feto, durante a gestação e, no período perinatal, pelo leite materno (Powell, *et al.*, 2001).

## **1.5 Resposta imunológica**

*Toxoplasma gondii* adaptou-se ao hospedeiro tendo desenvolvido estratégias para fugir ao seu sistema imunitário. A resposta imunológica é capaz de limitar a capacidade de multiplicação e disseminação do parasita mas é incapaz de o eliminar, o que lhe confere a capacidade de persistir em animais imunocompetentes. Esta possibilidade deve-se ao facto de viver em ambiente intracelular (para reduzir o tempo de exposição aos anticorpos) e de alterar a expressão das células de defesa, de forma a manipular a resposta do hospedeiro, para maximizar a sua probabilidade de transmissão ao hospedeiro definitivo (Lang, *et al.*, 2006).

### **1.5.1 Imunidade humoral**

Quando os bradizoitos invadem a mucosa intestinal ocorre a produção de IgA, sendo esta classe de anticorpos detetada apenas durante a fase aguda da primeira infeção (Jesus, 2008).

Os anticorpos IgM são os próximos a serem produzidos, correspondendo à fase aguda, podendo ser detetados a partir das 2 a 4 semanas pós-infeção e desaparecendo após 16 semanas. Esta classe pode, também, ser encontrada por mais de 16 semanas se o hospedeiro possuir doenças concomitantes como FIV, quando tem toxoplasmose ocular ou quando são administradas doses altas de corticosteroides (10 a 80 mg/Kg de prednisolona ou 10 a 80 mg/Kg de metilprednisolona) (Chandler, *et al.*, 2004; Lappin & Turnwald, 2004).

Os anticorpos IgG podem ser identificados entre 3 a 4 semanas pós-infeção, permanecendo elevados e detectáveis até 6 anos (Chandler, *et al.*, 2004; Lappin & Turnwald, 2004).

As classes de IgA, IgM e IgG são detetadas no soro após a excreção dos oocistos nas fezes (Bowman *et al.*, 2002) e, mais raramente, durante a excreção dos oocistos (Lappin, *et al.*, 1989).

### **1.5.2 Imunidade celular**

Todas as células nucleadas podem ser invadidas pelos taquizoitos, o que leva à sua disseminação por todo o organismo (Lang *et al.*, 2006; Jesus, 2008).

Os macrófagos são a primeira linha de defesa durante a fase inicial da infeção; produzem interleucina 12 (IL-12), que vai ativar as células natural killer e as células T ocorrendo a produção de interferão- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) que vão, em conjunto, atuar contra o parasita (Jesus, 2008; Lang *et al.*, 2006).

Na infecção aguda o parasita controla a resposta inflamatória para garantir a sua sobrevivência. Tal acontece por inibição do IFN- $\gamma$ , proliferação de linfócitos T, desativação dos macrófagos e inibição da apoptose das células hospedeiras (Lang *et al.*, 2006).

Em animais imunocompetentes, o equilíbrio entre a resposta imunológica do hospedeiro e o parasita permite uma benéfica relação entre os dois (Lang *et al.*, 2006).

### **1.6 Genótipos da toxoplasmose**

Através da técnica de Polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição (RFLP, do inglês "Restriction fragment length polymorphism"), aplicada a alguns marcadores genéticos, como o novo antígeno de superfície 2 (newSAG2), o antígeno de superfície 3 (SAG3), a Beta tubulina (BTUB), a proteína antigénica granular 6 (GRA6), c22-8, c29-2, L358, o piruvato cinase 1 (PK1) e Apico, têm sido descritos diversos genótipos do parasita (Su *et al.*, 2006; Herrmann, *et al.*, 2010).

Para além da descrição de três genótipos de *Toxoplasma gondii* - tipo I, II e III (Pena, *et al.*, 2006; Berger-Schoch, *et al.*, 2010; Elmore, *et al.*, 2010; Herrmann, *et al.*, 2010), foram também, encontrados cruzamentos entre os diferentes genótipos (Elmore, *et al.*, 2010; Herrmann, *et al.*, 2010). Diferença na virulência dos genótipos foi verificada em ratos domésticos, o tipo I foi sempre causa de infecção letal, tendo os tipos II e III evidenciado significativamente menos virulentos (Herrmann, *et al.*, 2010).

### **1.7 Sinais clínicos no gato**

O gato é o animal mais frequentemente afetado por *Toxoplasma gondii* embora o aparecimento de sintomatologia seja raro. O surgimento de manifestações clínicas, ou sintomatologia associada ocorre, sobretudo, em animais imunossuprimidos devido a infecção por FeLV, FIV ou PIF, pela administração de corticosteroides ou durante a gestação ocorrendo, neste caso, a infecção do feto. O quadro clínico pode ser diverso, sendo frequente enterite e correspondente linfadenopatia mesentérica, pneumonia, febre, alterações degenerativas do sistema nervoso central, encefalite (Hoskins & Shelton, 2001; Taylor *et al.*, 2007), miocardite, doença hepática (Hoskins, 2001; Lappin, 2006), uveíte anterior unilateral (Chandler *et al.*, 2004) ou bilateral e coriorretinite (Hoskins & Glaze, 2001).

As lesões mais comuns são as oculares (Hoskins & Glaze, 2001), sendo as mais raras as neurológicas. Os sinais neurológicos dependem da localização das lesões cerebrais e podem manifestar-se por hiperexcitabilidade, depressão, tremor, paresia,

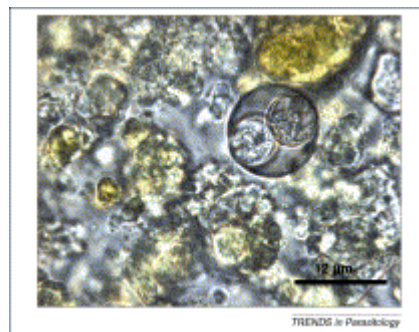
paralisia, convulsões (Hoskins & Shelton, 2001; Lappin, 2006) e défices em nervos cranianos, como o nervo ótico (II) e oculomotor (III) (Barr, 2006).

A infeção durante o início da gestação pode levar à morte fetal ou doença neonatal em gatinhos (Barr, 2006).

A fase crónica da doença é assintomática, tornando-se os animais portadores pela persistência de esquizontes/merontes ou pela formação de quistos alojados nos tecidos (Taylor *et al.*, 2007).

### 1.8 Diagnóstico

A demonstração da presença do agente conduz ao diagnóstico definitivo. Este pode ser identificado por coprologia (figura 2) – esfregaço fecal após centrifugação com sulfato de zinco – citologia e biopsia de tecidos (Lappin, 2006).



**Figura 2 - Oocisto esporulado observado em exame coprológico – teste de flutuação em açúcar (Elmore *et al.*, 2010).**

A citologia pode ser efetuada a partir de amostras de lavagens broncoalveolares, punções aspirativas por agulha fina de efusões pleurais, peritoneais e líquido cefalorraquidiano para identificar taquizoitos livres. Como é muito raro encontrar estas formas infetantes nestes locais, praticamente não se efetua e, quando se observam os taquizoitos, são achados laboratoriais (Barr, 2006).

As biopsias dos tecidos, como pulmão, fígado, músculo estriado (miocárdio), rim, cérebro e placenta, podem ser analisadas pela reacção em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *Polimerase Chain Reaction*), histopatologia e por coloração imunohistoquímica para identificar os quistos e os bradizoitos (Stiles, *et al.*, 1996; Jones, *et al.*, 1997; Lappin, 2006). Estas técnicas são, contudo, pouco utilizadas.

A detecção de anticorpos e antígenos através de testes serológicos é a mais utilizada. Os testes serológicos utilizados são o ensaio imunoenzimático (ELISA, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), a Imunofluorescência Indireta (IFA, do inglês *Immunofluorescence Assay*), o teste de aglutinação em látex (LAT, do inglês *Látex Agglutination Test*), a microaglutinação, o Western Blotting e o teste de Sabin-Feldman/Dye test (DT) (Corrêa, 1971; Lappin, *et al.*, 1989; Lappin, 2006; Lappin, 2010).

#### **1.8.1 Imunofluorescência indireta (IFA)**

A Imunofluorescência indireta detecta antígenos nos tecidos e nas culturas celulares e anticorpos no soro sendo, esta última, mais utilizada para o diagnóstico da toxoplasmose. A técnica permite identificar diferentes classes de anticorpos e quantificá-los (Tizard, 2004).

Na detecção de anticorpos no soro, a placa do teste é revestida por antígenos. Quando adicionada a amostra, se nela existirem anticorpos, formam-se imunocomplexos anticorpo-antígeno que ao serem ligados as antiglobulinas marcadas com isotiocianato de fluoresceína (FITC), emitem fluorescência após irradiação com luz de 495 nm (Tizard, 2004).

A quantidade de anticorpos presente no soro é estimada pelo aumento de diluições sucessivas com resultado positivo (Tizard, 2004).

#### **1.8.2 Ensaio imunoenzimático (ELISA)**

A técnica de ELISA pode ser utilizada para detectar antígenos ou anticorpos. A amostra a testar é adicionada a uma placa revestida com antígenos ou anticorpos é adicionada a amostra. A formação de imunocomplexos anticorpo-antígeno (devido à presença da imunoglobulina que se pretende identificar) vai ser marcada com um complexo enzima-anticorpo. A adição do substrato resulta na formação de cor, originando um resultado positivo (Tizard, 2004).

#### **1.8.3 Testes de aglutinação**

A reação de aglutinação é caracterizada pela formação de agregados de partículas em resultado da interação de anticorpos específicos com partículas insolúveis que contêm determinantes antigénicos à sua superfície. A aglutinação pode ocorrer tanto com as partículas que apresentam antígenos naturais na sua superfície (eritrócitos, protozoários), como com partículas inertes (látex) ou mesmo com células com antígenos não relacionados, como os eritrócitos, às quais se adsorvem ou se fixam antígenos solúveis.

Esta técnica detecta anticorpos e pode ser classificada em três grupos: o teste de aglutinação direta (DTA), o teste de aglutinação direta modificado (MAT) e o teste de hemaglutinação indireta (IHAT) (Jesus, 2008).

O DAT utiliza partículas antigénicas naturais, os taquizoitos tratados com formalina, que na presença de anticorpos específicos do soro podem ser diretamente aglutinados. (Jesus, 2008).

O MAT utiliza o mesmo processo que DAT, mas recorre ao 2-β-mercaptoetanol que desnatura as IgM específicas e não específicas, permitindo identificar somente as IgG (Jesus, 2008).

O IHAT baseia-se na utilização de eritrócitos que foram fixados com antígenos específicos e que na presença de anticorpos específicos provocam a sua aglutinação. Esta técnica pode ser conjugada com o MAT para diferenciar as várias classes de anticorpos (Jesus, 2008).

#### **1.8.4 Fixação do complemento**

O teste de fixação do complemento pode detetar anticorpos ou antígenos. Na deteção de anticorpos é adicionada à amostra de soro o antígeno específico em conjunto com o complemento; se nela existirem anticorpos, ocorre a ligação ao antígeno, promovendo a fixação do complemento. Em seguida, é adicionada uma quantidade padrão de eritrócitos que, na presença de imunocomplexos antígeno-anticorpo, não vão provocar a lise de todos os eritrócitos devido ao consumo parcial ou total do complemento, indicando um resultado positivo (Tizard, 2004).

#### **1.8.5 Western Blot**

O Western blot é uma técnica que combina a eletroforese e a deteção de anticorpos específicos. A eletroforese separa as proteínas do parasita por peso molecular, seguindo-se a sua transferência para uma membrana de nitrocelulose, incubação com o soro do animal e posterior identificação com um anticorpo secundário marcado com uma enzima; a adição do substrato resulta no surgimento de banda(s) corada(s) no(s) local(ais) onde houve formação de complexos anticorpo-antígeno (Stites, *et al.*, 1997).

#### **1.8.6 PCR**

A PCR é uma técnica que utiliza uma DNA polimerase termoestável para fazer a síntese *in vitro* de determinado fragmento de DNA, elevando o seu número de cópias para

níveis detetáveis. A reacção de amplificação é feita com o objectivo de detetar, quantificar e caracterizar o DNA (Barr, 2006).

### 1.8.7 Teste de Sabin-Feldman/ Dye test (DT)

Este é um método de coloração clássico do diagnóstico e utiliza o azul de metileno para corar os taquizoitos viáveis (Corrêa, 1971).

### 1.9 Sensibilidade e especificidade dos métodos serológicos

De entre as técnicas descritas, as mais utilizadas no diagnóstico da toxoplasmose são a ELISA, a IFA e as técnicas de aglutinação (Lappin, 2006). A sensibilidade e especificidade destas técnicas são referidas na tabela 1.

**Tabela 1 - Sensibilidade e especificidade das técnicas serológicas em gatos.**

Técnica serológica	Sensibilidade	Especificidade	Referência bibliográfica
IFA	94,2-100%	93,7-100%	(Dabritz, <i>et al.</i> ,2007; Ozkan, <i>et al.</i> , 2008; Craeye <i>et al.</i> ,2008; Györke, <i>et al.</i> , 2011)
ELISA	92,3-96,3%	95-99%	(Dabritz, <i>et al.</i> ,2007;Craeye <i>et al.</i> ,2008)
MAT	97,80%	100%	(Macrì, <i>et al.</i> , 2009)

A sensibilidade e especificidade da técnica dependem, também, da existência de doenças concomitantes como a infeção por FIV, da altura em que ocorreu a infeção e do cut-off utilizado (Dabritz, *et al.*,2007).

Estudos anteriores de gatos co-infectados com *T. gondii* e FIV demostraram que estes tinham maior probabilidade de produzir IgM em resposta à infeção pelo *T. gondii* do que IgG e que eram mais propensos a ter níveis de IgG mais baixos do que os gatos sem FIV. O contrário também tem sido descrito. Elevados níveis de IgG foram detetados, possivelmente pela reativação de *T. gondii* devido à imunossupressão induzida pelo FIV (Dabritz, *et al.*,2007). A resposta imunológica ao *T. gondii* também pode ser afetada se a infeção por FIV ocorreu antes ou depois da infeção pelo *T. gondii*. Gatos infetados com FIV 12 meses antes da infeção por *T. gondii* apresentaram menores títulos de IgM e desenvolveram IgG mais tarde do que gatos seronegativos a FIV, provavelmente devido ao atraso na produção de IgM e IgG como resultado da imunossupressão (Dabritz, *et al.*,2007). Gatos infetados com toxoplasmose 6 meses antes da infeção com FIV, mantinham os IgG

estáveis, mas apresentavam elevados IgM transitoriamente durante 4-6 semanas após a infecção com FIV (Dabritz, *et al.*, 2007).

### **1.10 Tratamento**

O tratamento encontra-se indicado sempre que exista sintomatologia associada à infecção. O fármaco mais frequentemente utilizado é o hidrocloreto de clindamicina, numa dose de 25 a 50 mg/Kg por via oral, duas vezes por dia (bid), durante um período mínimo de duas semanas (Chandler *et al.*, 2004; Bowman, 2009). Outros tratamentos que podem ser instituídos são o fosfato de clindamicina (12,5 a 25 mg/Kg, bid, intramuscular), pirimetamina (0,25 a 25 mg/Kg, por via oral, bid) com sulfonamida (30mg/Kg, por via oral, bid) ou trimetopim-sulfadiazina (15mg/Kg por via oral, bid, durante 4 semanas) (Bowman, 2009).

### **1.11 Profilaxia**

Para prevenir a infecção aos animais de companhia, o tipo de alimentação e o ambiente são fatores importantes (Lappin, 2006).

A alimentação só deve ser feita com alimentos comercialmente processados e, por isso, não é recomendada a alimentação com carne crua, carne mal passada, vegetais e fruta mal lavada, para evitar a ingestão de quistos e de oocistos esporulados (Lappin, 2006).

O ambiente controlado, não permitindo o contacto com o exterior, evita riscos como o acesso à predação de ratos e aves (Fortes, 2004; Bowman, 2009) e o contacto com outros animais infetados (Lappin, 2006) e hospedeiros de transporte, como minhocas, baratas e moscas. No domicílio todos os novos coabitantes devem ser despistados para doenças infecciosas que possam comprometer o sistema imunitário (Lappin, 2006).

### **1.12 Toxoplasmose em humanos**

A Toxoplasmose apresenta uma elevada importância devido ao facto de afetar o Homem e pela sua exposição ser muito comum (Elmore *et al.*, 2010). Estima-se que 30% da população mundial humana já entrou em contacto com o parasita (Tenter *et al.*, 2000).

A infecção do Homem pode ocorrer por ingestão de oocistos esporulados no ambiente (caixa de areia, água) ou em vegetais mal lavados, por ingestão de taquizoitos no leite inadequadamente pasteurizado, por ingestão de quistos em carne crua ou mal cozinhada (especialmente de suínos e ovinos), por transfusão de sangue e transplante de órgãos (Elmore *et al.*, 2010) ou através da transmissão transplacentária, pela passagem de taquizoitos para o feto (Elmore *et al.*, 2010).



A manifestação clínica no Homem é, geralmente, rara, a menos que haja doença concomitante que provoque imunossupressão, como a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) e o Lúpus eritematoso sistémico (Tenter, *et al.*, 2000), ou que o indivíduo esteja a ser submetido a tratamentos com corticoesteroides ou outros princípios activos imunossupressores, como os administrados em indivíduos transplantados. As localizações preferenciais do *T. gondii* são o cérebro, músculos e globo ocular (Pearson, 2009). Os quadros clínicos que podem manifestar-se são febre, mal-estar, mialgia, anorexia, linfadenopatia (linfonodos cervicais) e, com menos frequência miocardite, encefalite e retinocoroidite (Lappin, 2006). A toxoplasmose pode desencadear o desenvolvimento de autismo e de outras doenças neurológicas, como epilepsia e distúrbios obsessivo-compulsivos (Prandota, 2010).

A infeção congénita pode ser grave especialmente se adquirida no primeiro trimestre (10 a 24 semanas) (Bowman *et al.*, 2002; Pearson, 2009). Esta pode manifestar-se através de aborto, nados mortos ou degeneração do sistema nervoso do feto com necrose cerebral, hepatoesplenomegália, insuficiência hepática e hidrocefalia (Lappin, 2006).

As infeções adquiridas após o primeiro trimestre apresentam menor gravidade. Crianças que nascem de mães infetadas durante o terceiro trimestre parecem saudáveis ao nascer, mas apresentam alto risco de desenvolver convulsões, deficiência intelectual, coriorretinite, cegueira (Tenter, *et al.*, 2000; Pearson, 2009) e outros sintomas que podem manifestar-se meses ou anos mais tarde (Pearson, 2009).

#### **1.12.1 Aspetos zoonóticos**

Dado o carácter zoonótico da transmissão da toxoplasmose ao Homem, pensamos ser importante referir algumas das principais medidas de profilaxia a adaptar, no sentido de evitar a infeção em humanos.

As medidas de profilaxia para a infeção humana são:

- Higienização da caixa de areia: a esporulação dos oocistos ocorre ao fim de 1 a 5 dias, pelo que a remoção diária das fezes e a sua desinfeção com água a ferver reduz o risco de contaminação (Urquhart, *et al.*, 1998; Barr, 2006; Dorny & Dubey, 2007). Deve colocar-se máscara facial (Dabritz & Conrad, 2009) e lavar-se sempre as mãos com sabão e água morna após a manipulação da caixa de areia (Barr, 2006; CUCVM, 2010);

- A caixa de areia não deve ser colocada na cozinha ou sala de jantar (Hendrix, 1998);
- Deve ser feito o controlo da população de animais abandonados nas ruas e de pragas (ratos e baratas) para evitar a contaminação do ambiente (Barr, 2006);
- Utilização de luvas descartáveis ao manipular o solo porque os oocistos podem manter-se viáveis até 18 meses (Bowman *et al.*, 2002; Afonso *et al.*, 2006a);
- As mulheres que planeiam engravidar e que estão grávidas não devem entrar em contacto com as fezes do gato, pelo que não devem efetuar a higienização da caixa de areia (Urquhart, *et al.*, 1998; Lappin, 2006);
- Ferver a água de fontes ambientais (Jones & Dubey, 2010);
- A carne para consumo deve ser cozinhada a 80°C, durante, no mínimo, 15 minutos (Lappin, 2006);
- Na manipulação de carne crua devem utilizar-se luvas e lavar as mãos no fim da preparação (Lappin, 2006). As superfícies onde se manipulou a carne devem ser convenientemente limpas (Barr, 2006). Os objetos utilizados para os animais não devem ser utilizados para as pessoas (Lappin, 2006);
- Na mulher grávida, a mensuração sérica de anticorpos, por ELISA ou IFA (Pearson, 2009), é importante para que esta possa ser mais cuidadosa nas medidas profiláticas já descritas. Mulheres que já possuam anticorpos não necessitam de tantos cuidados porque a transmissão congénita é mais improvável (Bowman, 2009);
- Em gatos seronegativos, é importante realizar análises coprológicas para avaliar a excreção de oocistos. Quando detetados os oocistos, os animais podem ser hospitalizados durante duas semanas, para prevenir a exposição ao dono (Bowman, 2009);
- A desinfecção do ambiente deve ser feita com hidróxido de amónio a 5% durante 30 minutos, ou solução iodada a 2%, durante 10 minutos (Jones & Dubey, 2010);
- Os quistos sobrevivem ao frio durante várias semanas mas não resistem ao congelamento (Fortes, 2004). Devem congelar-se os produtos cárneos a uma temperatura de -12°C, durante 24h (Elmore *et al.*, 2010);

- Realização de campanhas de educação com objetivo de informar mulheres que planeiam engravidar e proprietários de felinos sobre a transmissão do parasita e sua prevenção (Fortes, 2004);
- Para diminuir a contaminação de oocistos no ambiente, os gatos de rua deveriam ser instalados em gatis (Dabritz, *et al.*, 2007);
- Atualmente, encontra-se em desenvolvimento uma vacina para evitar a excreção de oocistos em gatos. Toxovax® é uma vacina viva para administração em ovelhas mas, quando utilizada em gatos, inibe o desenvolvimento sexual de *T.gondii*, evitando a produção de oocistos (Elmore, *et al.*, 2010);

### 1.13 Epidemiologia

Embora existam na literatura inúmeros estudos sobre a prevalência da toxoplasmose em gatos, em Portugal, são poucos os trabalhos publicados sobre o assunto.

Em **Portugal**, em Trás-os-Montes e Alto Douro, no distrito de Vila Real foi realizado um estudo, onde é descrita uma seroprevalência de 35,8%, numa população de 204 gatos, com o teste de aglutinação modificado. Foram avaliados como fatores de risco a idade, o tipo de alimentação, o habitat, a co-infecção com FIV, o contacto com outros gatos. A seroprevalência encontrada foi superior em gatos com idades entre 36-71 meses e 72-180 meses, alimentados com comida caseira, com acesso ao exterior, com contacto com outros gatos e quando infetados concomitantemente com FIV. Este estudo não verificou diferenças significativas em fatores como raça e sexo, e infeção com FeLV (Lopes, *et al.*, 2008).

Também em **Portugal**, em Lisboa, num outro estudo, com 194 gatos de rua, foi descrita, pela técnica de aglutinação direta, uma seroprevalência de 24,2%. Nos gatos seropositivos foi realizada coprologia e em nenhum deles foram identificados oocistos (Duarte *et al.*, 2010).

Na tabela que se segue, são apresentados os resultados de alguns estudos de seroprevalência da toxoplasmose realizados em diversas regiões do mundo.

**Tabela 2 - Prevalência da Toxoplasmose em gatos, em diversos países/cidades.**

Local	Dimensão da amostra	Seroprevalência	Teste	Fatores de Risco	Referência
<b>África</b>					
<b>Egito (Cairo)</b>	180 gatos de exterior	95,50%	MAT	Habitat de exterior, infecção com FIV	(Al-Kappany, <i>et al.</i> , 2011)
<b>Egito (Gizé)</b>	158 gatos de exterior	97,40%	MAT	Habitat de exterior	(Al-Kappany, <i>et al.</i> , 2010)
<b>América do Norte</b>					
<b>Canadá</b>	25	12%	IHA	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Estados Unidos</b>	12.628	31,60%	ELISA	Sexo masculino e gatos de pêlo curto	(Vollaire <i>et al.</i> , 2005)
<b>Califórnia (Morro Bay)</b>	123 gatos domésticos e de exterior	25%	ELISA e MAT	Idade, gênero feminino, habitat de exterior e tipo de alimentação	(Dabritz, <i>et al.</i> , 2007)
<b>Estados Unidos (Florida)</b>	553	12,10%	ELISA	Sem fatores determinantes	(Luria, <i>et al.</i> , 2004)
<b>Estados Unidos (Oklahoma)</b>	618	22%	LAT	Sem fatores determinantes	(Rodgers & Baldwin, 1990)
<b>Hawai</b>	67 gatos de exterior	37,30%	Não especificado	Não especificado	(Danner, <i>et al.</i> , 2007)
<b>México (Colima)</b>	80 gatos domésticos	28,80%	ELISA	Alimentação caseira	(García-Márquez, <i>et al.</i> , 2007)
<b>América do sul</b>					
<b>Argentina (Buenos Aires)</b>	169	19,50%	IHA	Acesso à predação e que coabitavam com outros gatos	(Fernández, <i>et al.</i> , 1995)
<b>Brasil (São Paulo)</b>	237	35,40%	MAT	Idade superior a um ano	(Penha, <i>et al.</i> , 2006)
<b>Brasil (Lages)</b>	300	14,33%	IFA	Idade igual ou superior a seis meses e gatos de exterior	(Rosa, <i>et al.</i> , 2010)
<b>Colômbia</b>	170	35,80%	MAT	Não especificado	(Dubey, <i>et al.</i> , 2006b)
<b>Chile</b>	27	85,20%	IHA	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>América central</b>					
<b>Porto Rico</b>	19	70,30%	MAT	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Ásia</b>					

Local	Dimensão da amostra	Seroprevalência	Teste	Fatores de Risco	Referência
<b>Árabia Saudita</b>	Não especificado	30,30%	Não especificado	Não especificado	(Salant & Spira, 2004)
<b>Austrália (Melbourne)</b>	103	39%	ELISA	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Bangladesh</b>	24	33,30%	LAT	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>China</b>	206	25,24%	ELISA	Acesso ao exterior e idade superior a 3 anos	(Zhang et al., 2009)
<b>China (Guangzhou)</b>	34	79,40%	MAT	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>China (Taiwan)</b>	202	5,50%	LAT	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Coreia do Sul (Gyeonggi-do)</b>	174 gatos de exterior	8,1%(LAT), 16,1% (ELISA), 13,2%(PCR)	LAT, ELISA, PCR	Gênero feminino	(Kim <i>et al.</i> , 2008)
<b>Coreia do Sul (Seul)</b>	152	38,90%	ELISA e PCR	Acesso ao exterior e gênero masculino	(Lee <i>et al.</i> , 2010)
<b>Irão</b>	140	32,1	MAT	Idade e infecção com FIV	(Akhtardanesh <i>et al.</i> , 2010)
<b>Irão (Kashan)</b>	50	86%	IFA	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Irão (Sari)</b>	100	40%	LAT	Gênero feminino, idade, clima	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Israel (Jerusalém)</b>	1.062	16%oeste e 34,1%oriental	ELISA	Idade e estação quente	(Salant & Spira, 2004)
<b>Japão (Saitama)</b>	179	18,40%	LAT	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Jordânia</b>	Não especificado	18%	Não especificado	Não especificado	(Salant & Spira, 2004)
<b>Líbano</b>	324	78,10%	Não especificado	Não especificado	(Salant & Spira, 2004)
<b>Malásia</b>	55	14,50%	IFA	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Paquistão</b>	50	56%	LAT	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Singapura</b>	772	30,30%	LAT	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Sri Lanka (Galápagos)</b>	52	63%	ELISA	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)

Local	Dimensão da amostra	Seroprevalência	Teste	Fatores de Risco	Referência
<b>Sri Lanka (Colombo)</b>	86	30,20%	MAT	Idade, acesso ao exterior	(Kulasena, <i>et al.</i> , 2011)
<b>Tailândia (Bangkok)</b>	592	11%	LAT	Não especificado	(Jones&Dubey, 2010)
<b>West Indies (St Kitts)</b>	96	73,90%	MAT	Não especificado	(Jones&Dubey, 2010)
<b><u>Eurásia</u></b>					
<b>Turquia (Ankara)</b>	99 gatos domésticos e de exterior	40,4% e 34,3%	DT e IFAT	Idade superior a 2 anos	(Ozkan, <i>et al.</i> ,2008)
<b><u>Europa</u></b>					
<b>Alemanha</b>	300	65,60%	ELISA	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Austria</b>	456	48,20%	IFA	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Bélgica</b>	567	25%	IFA	Idade até aos 7 anos	(Craeye <i>et al.</i> , 2008)
<b>Eslováquia</b>	164	18,90%	ELISA	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Espanha (La Rioja)</b>	306	33,70%	IFAT	Idade superior a seis meses, acesso ao exterior e sexo masculino	(Miró <i>et al.</i> , 2004)
<b>Espanha (Barcelona)</b>	220	45%	MAT	Idade superior ou igual a um ano, acesso ao exterior e gatos que coabitam com mais de cinco gatos	(Gauss, <i>et al.</i> , 2003)
<b>Espanha (Madrid)</b>	279	30,80%	IFAT	Idade superior a seis meses, acesso ao exterior e sexo masculino	(Miró <i>et al.</i> , 2004)
<b>França (Lyon)</b>	301	18,60%	MAT	Clima	(Afonso <i>et al.</i> , 2006b)
<b>Hungria</b>	330	47,60%	IFA	Animais rurais, sexo feminino	(Hornok <i>et al.</i> , 2011)
<b>Irlanda (Dublin)</b>	121	33,70%	ELISA	Acesso ao exterior	(Juvet, 2010)
<b>Itália (Florença)</b>	50	44%	MAT	Não especificado	(Mancianti <i>et al.</i> ,2009)
<b>Itália (Veneto)</b>	189	69,30%	IHA	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)
<b>Polónia</b>	17	70,60%	MAT	Não especificado	(Jones & Dubey, 2010)

Local	Dimensão da amostra	Seroprevalência	Teste	Fatores de Risco	Referência
Portugal (Lisboa)	194	24,20%	Teste de aglutinação direta	Sem fatores determinantes	(Duarte <i>et al.</i> , 2010)
Portugal (Nordeste)	204	35,08%	MAT	Idade, tipo de alimentação, gatos de exterior, contacto com outros gatos, e infeção com FIV	(Lopes <i>et al.</i> , 2008)
República Checa	286	44,10%	IFA	Não especificado	(Salant & Spira, 2004)
Romênia	243 gatos domésticos	12,80%	ELISA	Idades, região rural e exterior	(Györke, <i>et al.</i> , 2011)



Como se observa na tabela 2, a prevalência pode variar entre países e entre regiões do mesmo país. Isto acontece devido ao facto de, dentro do mesmo país existirem diferentes condições ambientais, como o clima ou tipo de território (rural ou urbano) (Tenter *et al.*, 2000; Györke, *et al.*, 2011).

Os fatores de risco identificados na maioria dos estudos foram a área geográfica, as condições ambientais (Afonso *et al.*, 2006b; Taylor *et al.*, 2007; Sharif *et al.*, 2009), a idade (Jones & Dubey, 2010; Lopes *et al.*, 2011), o habitat (Meireles *et al.*, 2004; Taylor *et al.*, 2007; Lopes, *et al.*, 2008), a alimentação (Afonso *et al.*, 2006b), outras doenças infecciosas, nomeadamente a infeção com FIV, que apresenta maior risco de reativação do parasita (Akhtardanesh *et al.*, 2010; Lopes *et al.*, 2011b) e a coabitação com outros gatos (Fernández *et al.*, 1995; Lopes, *et al.*, 2008).

O sexo e a raça ainda não são considerados *per se* fatores de risco. No entanto, em estudos realizados na Coreia do Sul (Kim *et al.*, 2008) e Irão (Sharif *et al.*, 2009), verificou-se que o género feminino apresenta maior seroprevalência, ao invés dos estudos realizados nos EUA (Vollaire *et al.*, 2005), Espanha (Miró *et al.*, 2004) e Coreia do Sul (Lee *et al.*, 2010) em que no género masculino se observaram maior número de seropositivos. Quanto à raça, Lopes, Cardoso & Rodrigues, em 2008, observaram maior seropositividade em gatos siameses e persas.

Em Portugal, existem alguns trabalhos sobre a toxoplasmose noutros hospedeiros, nomeadamente no Homem, em animais de companhia, selvagens e de produção.

No caso dos animais de companhia, foi observada uma seroprevalência de 38% (256/673) em cães. O diagnóstico foi efetuado pela técnica de MAT e foram identificados como fatores de risco a idade superior a 12 meses, o tipo de alimentação (caseira ou alimentos crus) e o acesso ao exterior (Lopes, *et al.*, 2011b).

Em animais selvagens, pela técnica de MAT, a seroprevalência descrita foi de 50% (26/52) em aves e de 90% (18/20) em mamíferos (javali, raposas vermelhas, ginetas, texugos, corços e um lobo ibérico). Esta elevada prevalência realça a necessidade de medidas preventivas ao nível da manipulação das vísceras e carcaças de caça (veado e javali), que devem ser incineradas e enterradas para evitar a ingestão por parte de outros animais (Lopes, *et al.* 2011a).

Por fim, no caso dos animais de produção, alguns autores descrevem a identificação de diferentes linhagens genotípicas em suínos, pombos, galinhas e ovinos.

Em suínos, a seroprevalência da toxoplasmose, por MAT, foi de 15,6% (56/333) e foram identificadas diferentes genótipos, por PCR, tendo 11 sido do tipo II e quatro do tipo III (Sousa, *et al.*,2006).

Na região de Lisboa, num estudo realizado com o objetivo de avaliar a contaminação do solo, foi encontrada em pombos uma seroprevalência de 4,6% (23/695). Foram, ainda, encontrados nove genótipos do tipo II, dois do tipo III e um do tipo I. Os genótipos do tipo II correspondiam, predominantemente, a casos de toxoplasmose sintomática em humanos e as do tipo I a genótipos atípicos em casos graves de toxoplasmose ocular (Waap, *et al.*, 2008).

Em galinhas, com a técnica de MAT, a seroprevalência foi de 27% (61/225). O parasita também foi identificado, por PCR, tendo em oito galinhas sido encontrado o genótipo do tipo II e, em quatro, o tipo III (Dubey, *et al.*,2006a).

Num estudo, de genotipagem de isolados de galinhas, suínos e ovinos infetados com *T.gondii*, foi descrito que, dos três genótipos, o tipo II foi mais comum em aves e suínos e o tipo III em ovinos; alguns cruzamentos de genótipos foram, também, reconhecidos. Esta identificação é importante devido à identificação de genótipos atípicos como causa de casos graves de toxoplasmose em humanos (Sousa, *et al.*,2010).

Para melhorar o diagnóstico da toxoplasmose em ovinos, foram analisados diferentes *cut-off*, tendo a diluição de 1:20, sido identificada como a melhor para detetar seroprevalências nestes hospedeiros. A população de ovinos apresentou 17,1% (250/1.467) de seropositivos e foi demonstrada maior frequência de quistos na carne de ovinos, em relação aos suínos e caprinos, apresentando, por isso, um maior risco para a saúde humana (Sousa, *et al.*,2009).

Por fim, existe um trabalho onde foi identificado *Toxoplasma gondii* em dois fetos de bovinos; estas infeções são raras e constituem um diagnóstico diferencial em abortos (Canada, *et al.*,2002).

## 2. OBJETIVOS

O objetivo principal deste estudo foi o de contribuir para a avaliação da seroprevalência de base clínica da toxoplasmose em gatos dos concelhos de Oeiras e de Cascais. O tema foi selecionado para averiguar dois grupos distintos de animais, gatos com acesso ao exterior e gatos de interior, com o objetivo de identificar qual a população de maior risco e relacioná-la com outros fatores, como o tipo de alimentação, género, origem dos progenitores, *habitat*, idade e infeção concomitante com doenças imunossupressoras.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Seleção da população**

A dimensão da população a estudar foi escolhida em função da disponibilidade de recursos laboratoriais e logísticos, por forma a tornar o presente estudo exequível. Assim, o número total de amostras recolhidas e analisadas foi de 63, tendo a recolha de sangue e dados sobre os respetivos animais sido realizada no Hospital Veterinário de Oeiras, durante o estágio curricular, entre fevereiro e julho de 2011.

#### **3.2 Caracterização da área e da população em estudo**

Os concelhos de Oeiras e Cascais têm um clima temperado mediterrânico e inserem-se na zona geográfica da costa do Estoril.

Todos os gatos estudados deram entrada no Hospital, para vacinação, procedimentos cirúrgicos e acompanhamento médico, não apresentando sinais clínicos compatíveis com a toxoplasmose.

Os animais em estudo eram gatos domésticos, com proprietário. Também foram incluídos animais errantes, uma vez que o Hospital mantinha um protocolo com uma associação protetora de animais para a sua esterilização.

#### **3.3 Folha informativa**

Os proprietários dos animais foram informados da realização do presente estudo através de uma folha informativa (Apêndice I) e convidados a participar. Esta folha foi elaborada para esclarecer os proprietários sobre a toxoplasmose e aumentar a taxa de colaboração no estudo.

#### **3.4 Inquérito sobre fatores de risco da infeção por *Toxoplasma gondii***

Aos participantes foi entregue um inquérito para obter informações sobre a localização geográfica dos animais e os principais possíveis fatores de risco.

Os parâmetros do questionário foram o nome do proprietário, a área de residência, o tipo de residência (apartamento, vivenda e apartamento com terraço), o nome, a idade e a raça do gato, tipo de alimentação (caseira, comercial, carne crua, leite), origem do animal (progenitores de exterior ou de interior), o tipo de habitat (interior ou exterior) e a presença de alguma patologia médica ou infecciosa (Apêndice I). Após a autorização dos proprietários foi recolhida a amostra de sangue.

Quando a idade era desconhecida (gatos errantes ou por desconhecimento do dono) esta foi estimada através da dentição.

O inquérito foi elaborado com o intuito de verificar se os fatores, nesta região, seriam os mesmos que noutras regiões do país e noutros países.

### **3.5 Recolha de amostras**

De cada gato foram recolhidos 2 mL de sangue através de punção venosa (veias jugular, cefálica ou femoral) com uma agulha de 23 G e de 0,6 x 25 mm e uma seringa de 2 ml para um tubo seco que foram, posteriormente, centrifugadas (centrífuga Selecia) para obtenção do soro, durante 2 minutos a 2500  $\times g$ . As amostras foram mantidas a 4°C durante um período máximo de 36 horas, até serem transportadas num contentor com refrigeração e armazenadas a -80° na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, em Lisboa, até ao seu processamento.

### **3.6 Detecção laboratorial de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii***

A técnica laboratorial utilizada para a deteção de anticorpos IgG foi a imunofluorescência indireta (IFA) tendo, para tal, sido utilizado o teste comercial Fluotoxoplasma (Diagnostik Megacor®).

O método baseia-se num *kit* onde o soro do gato é diluído em PBS e incubado em poços individuais para permitir a reação dos anticorpos IgG com os taquizoítos. Os slides são depois lavados para remover as proteínas não reativadas e o conjugado com fluoresceína anti-IgG é adicionado. O conjugado anti-IgG vai ligar-se ao anticorpos do imunocomplexo e emitir fluorescência ao microscópio de fluorescência (Tizard, 2004).

#### **3.6.1 Execução do teste**

1. Retirou-se o *kit* FLUOTOXOPLASMA, que se encontrava refrigerado, e colocou-se à temperatura ambiente, enquanto se preparavam as diluições dos soros.
2. Preparação das diluições 1:50 dos soros a estudar: Pipetaram-se 5  $\mu$ l de soro e 250  $\mu$ l de PBS para um microtubo e homogeneizou-se. Repetiu-se o procedimento para todas as amostras, utilizando-se uma ponta estéril para cada uma.
3. Abriu-se o *kit* e identificaram-se na lâmina os locais de aplicação dos controlos positivo e negativo e das amostras.

Cada *kit* possui dez poços, dois poços são para os controlos positivo e negativo e os restantes oito para as amostras.

O registo do controlo positivo e negativo deve ser sempre no mesmo local em todos os kits para facilitar a leitura dos resultados ao microscópio de fluorescência. O controlo negativo colocou-se no canto superior esquerdo e o controlo positivo no canto inferior esquerdo.



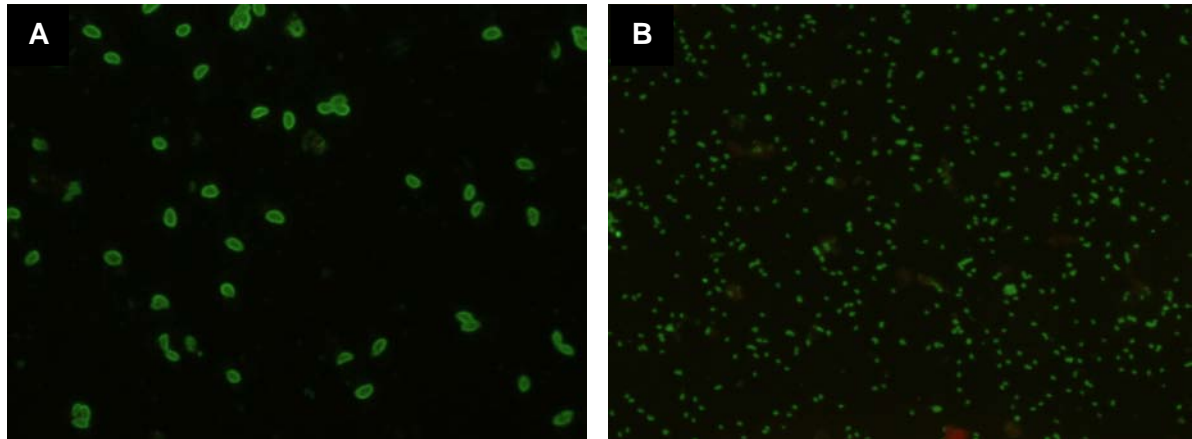
**Figura 3 - Lâmina do *kit* do teste FLUOTOXOPLASMA.**

4. Aplicaram-se 20 µl de controlo negativo e positivo nos respetivos poços. Nos restantes, adicionaram-se 20 µl de cada soro na diluição de 1:50, permitindo a reação de complexos antigénio-anticorpo.
5. Em seguida, a lâmina foi a incubar em câmara húmida na estufa a 37°C, durante 30 minutos.
6. Lavou-se a lâmina com PBS. Aplicou-se o PBS com um esguicho no meio da lâmina, sem ser diretamente nos poços para remover os anticorpos não reativos. Mergulhou-se várias vezes a lâmina num globlet com PBS e agitou-se, para uma melhor lavagem; por último, voltou a lavar-se com PBS corrente através de um esguicho. A lavagem teve a duração de 2 a 5 minutos.
7. Adicionou-se uma gota de conjugado anti-cat-IgG-FITC (isotiocianato de fluoresceína) em cada poço e colocou-se novamente em câmara húmida, na estufa a 37°C, durante 30 minutos.
8. Repetiu-se o passo número 6.
9. Aplicaram-se 2 gotas de meio de montagem numa lamela e colocou-se por cima da lâmina. Procedeu-se à observação num microscópio de fluorescência, a um comprimento de onda de 450 nm, com as objetivas de x10 e de x40.

### **3.6.2 Interpretação dos resultados**

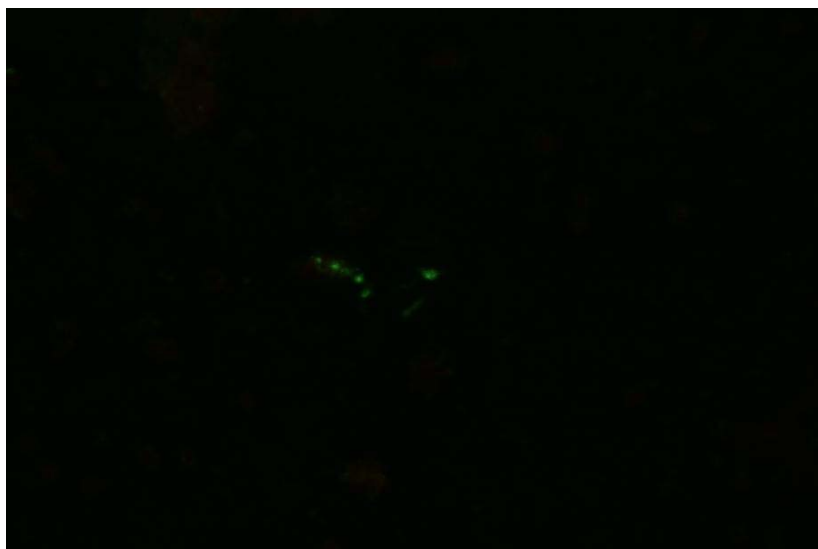
A reação positiva ocorre quando se observa um resultado igual ao do controlo positivo – com fluorescência nítida, brilhante e regular por toda a membrana do taquizoito

(Figura 4, A e B) – na diluição 1:50 ou numa diluição maior. O tamanho, a aparência e a densidade das características deve ser comparado com os controlos positivo e negativo.



**Figura 4 - Resultado positivo pela técnica de IFA. A)  $\times 400$ ; B)  $\times 100$ . Original da autora.**

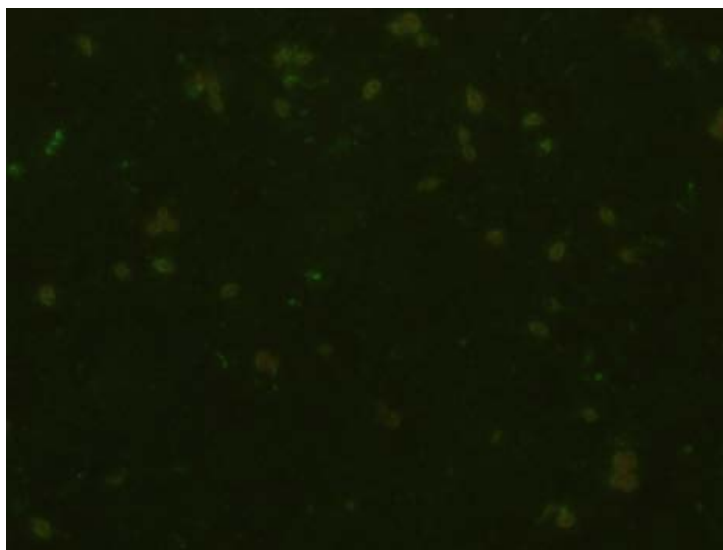
O resultado negativo é apresentado para títulos menores ou iguais a 1:50 com coloração apical fluorescente dos taquizoitos ou mesmo na presença de cor vermelha (figura 5).



**Figura 5 - Resultado negativo à toxoplasmose da técnica IFA ( $\times 400$ ). Original da autora.**

A fluorescência basal (figura 6) é caracterizada pela coloração regular em toda a membrana do taquizoito, mas de cor pouco intensa. Esta pode ter várias causas,

nomeadamente erro laboratorial (como lavagens inadequadas com PBS) ou contacto recente com o parasita (infecção aguda, positivo fraco) (DNAtech, informação não publicada).



**Figura 6 - Fluorescência basal da técnica IFA (×400). Original da autora.**

Durante a observação ao microscópio de fluorescência 19 das amostras foram consideradas duvidosas. Estas apresentavam fluorescência basal o que suscitou dúvidas entre um resultado positivo e negativo, tendo sido necessário repeti-las para nova avaliação.

Em três das 19 amostras a análise foi repetida com o mesmo kit (Fluotoxoplasma, Diagnostik Megacor®) tendo, as restantes, sido repetidas num laboratório de patologia veterinária, o DNAtech. A técnica utilizada foi, também, a imunofluorescência indireta, mas com um kit de fornecedor diferente, a Biomerieux®. A diluição realizada foi de 1:40 em 5 amostras e de 1:40 e 1:1200 nas 11 restantes. Nas amostras positivas/duvidosas, o laboratório recorre às duas diluições para diferenciar os casos de doença ativa / contato recente de infecção antiga. Se as diluições de 1:40 e 1:1200 forem ambas positivas é sugestivo de uma infecção ativa ou recente, caso o animal apresente sintomatologia (Berkow & Fletcher, 1994). Esta diferenciação é feita para haver um melhor aconselhamento aos proprietários, porque no caso de serem portadores assintomáticos existe a possibilidade de re-excreção de oocistos e devem ser seguidas as medidas preventivas. O procedimento para o kit da Biomerieux foi igual ao descrito para o Fluotoxoplasma, com exceção da diluição do soro que foi de 1:40.

Em duas das amostras que foram reavaliadas, o resultado manteve-se duvidoso, tendo os respectivos animais sido retirados do estudo devido à impossibilidade de colheita de nova amostra, três semanas após a primeira recolha. A repetição seria importante devido



ao facto de, em caso de infeção ativa, os anticorpos IgG poderem não ser detetáveis por altura da primeira colheita mas já o serem ao fim de duas a três semanas; evitar-se-ia, assim, a emissão de resultados falso negativos.

#### 4. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

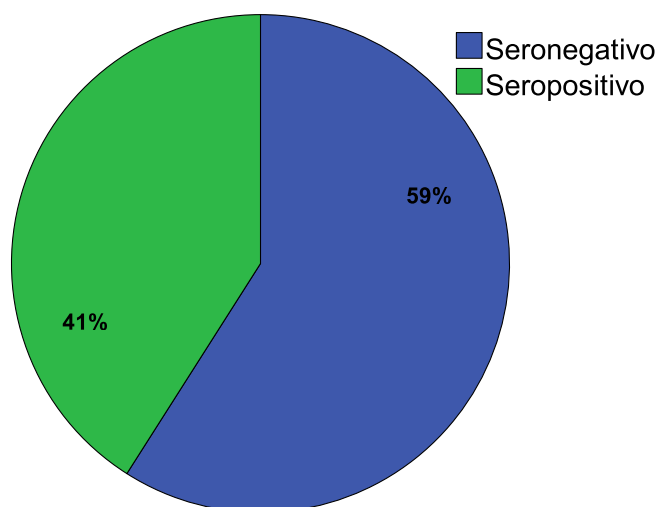
Com o objetivo de determinar a prevalência de base clínica da toxoplasmose em gatos e identificar os seus fatores de risco na região de Oeiras e Cascais, foi realizada uma análise estatística dos resultados com o recurso aos programas de Excel e Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) com base nos resultados obtidos. Foram recolhidas 63 amostras embora, para efeitos de análise estatística, tenham sido consideradas, apenas, 61 devido à exclusão de duas delas, conforme anteriormente descrito.

##### 4.1 Prevalência da Toxoplasmose

A definição de caso, para efeitos deste estudo considerou-se ser animal com serologia positiva, com título de IgG detetável em diluição igual ou superior a 1:50.

Na população estudada foram encontrados 36 gatos seronegativos e 25 seropositivos para *Toxoplasma gondii*, o que corresponde a uma seroprevalência de 41%, como indicado no gráfico 1.

**Gráfico 1 - Prevalência de base clínica da Toxoplasmose nos concelhos de Oeiras e Cascais.**



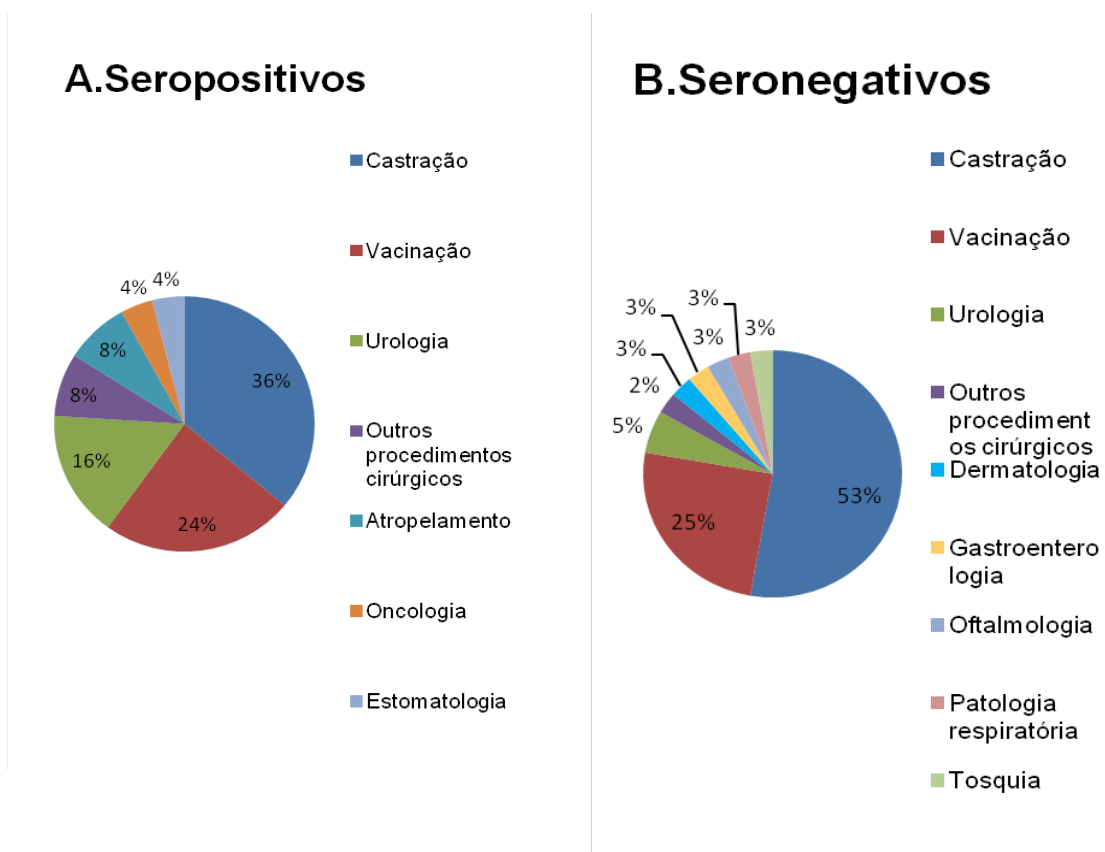
Nenhum dos gatos estudados apresentava sintomatologia de toxoplasmose.

No que respeita às razões que levaram os gatos seropositivos à consulta, conforme se pode observar no gráfico 2A, foram, por ordem decrescente de casos, a castração (9/25), a vacinação (6/25), problemas urinários (4/25), atropelamentos (2/25), outros procedimentos

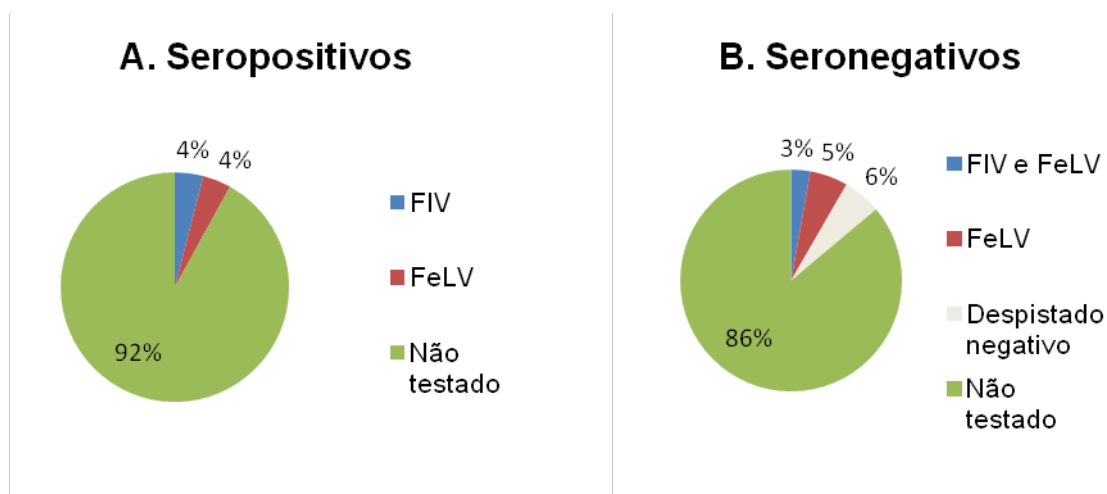
cirúrgicos (2/25), neoplasias (1/25) e problemas estomatológicos (1/25) (Apêndice III). Apenas um dos animais em estudo era positivo para FIV e um para FeLV (gráfico 3A).

Relativamente à população seronegativa, os motivos de apresentação à consulta foram castração (19/36), vacinação (9/36), problemas urinários (2/36), problemas dermatológicos (1/36), problemas gastrintestinais (1/36), problemas oftalmológicos (1/36), problemas respiratórios (1/36), tosquia (1/36) e outros procedimentos cirúrgicos (1/36) (gráfico 2B e Apêndice III). Um dos gatos seronegativos era positivo para FIV e FeLV e dois outros animais eram positivos para FeLV (gráfico 3B).

**Gráfico 2 - Caracterização da população em estudo, em função da causa de apresentação à consulta.**



**Gráfico 3 – Resultados da serologia em função da concomitância com infecção por FIV e FeLV.**



#### **4.2 Avaliação dos fatores de risco**

Para além das amostras de sangue, foram recolhidos, a partir de um inquérito, alguns dados epidemiológicos, nomeadamente a idade, género, raça, habitat, tipo de alimentação e proveniência, para avaliação de eventuais fatores de risco.

Para a verificação da associação estatisticamente significativa entre os fatores e a seropositividade recorreu-se aos testes de Qui-quadrado e de Fisher. Os testes com valores de p menores ou iguais a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

#### 4.2.1 Idade

Os animais estudados apresentavam idades compreendidas entre os 7 meses e os 16 anos.

Os gatos com idade inferior a dois meses, não foram incluídos no estudo para evitar a interferência de anticorpos maternos (que persistem das 8 às 12 semanas) (Omata, *et al.*, 1994; Lappin, 2006).

As medidas de tendência central que caracterizam a variável são, para os casos seropositivos, a média de 4,7 anos, com intervalo de confiança de 95%, entre 3,2 e 6,2, e a mediana de 5 anos.

As medidas de tendência central que caracterizam a variável são, para casos seronegativos, a média de 3,7 anos e a mediana de 2 anos (Apêndice II, tabela 1).

**Tabela 3 - Seroprevalências em função do grupo etário.**

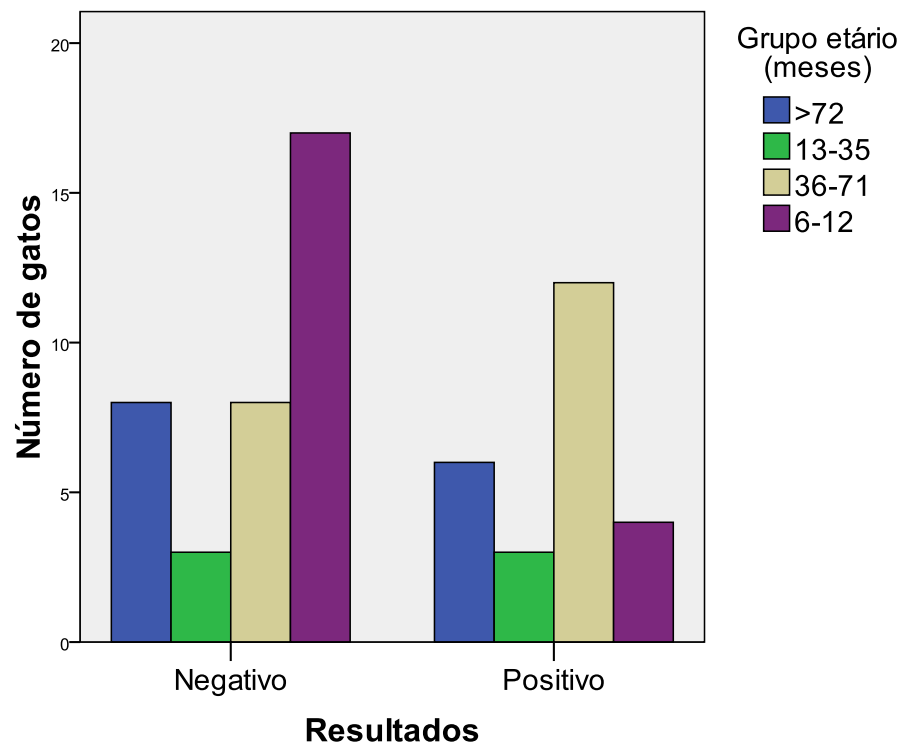
		Grupo etário				Total
Meses		[6-12]	[13-35]	[36-71]	[>72]	
<b>Serorevalências</b>						
	<b>(%)</b>	19,05	50	60	42,86	
Resultados	Negativo	17	3	8	8	36
	Positivo	4	3	12	6	25
	Total	21	6	20	14	61

Na tabela 3 é possível constatar que a percentagem de seropositivos aumenta até aos 6 anos de idade (72 meses), atingindo o valor máximo, no grupo etário dos 36-71 meses, com 60% de seropositivos (gráfico 4 e Apêndice II, figura 1).

As frequências esperadas em 25% das células são inferiores a 5 o que não permite a aplicação do teste de Qui-quadrado de independência entre grupo etário e resultado de teste.

O teste estatístico não paramétrico de Mann-Whitney foi aplicado por rejeição da normalidade da variável idade testada pelo teste de Shapiro-Wilk. O teste de Mann-Whitney sugere que não existem diferenças estatisticamente significativas entre as idades ( $p=0,066$ ) (Apêndice II, tabelas 2 e 3).

**Gráfico 4 - Relação entre o grupo etário e o resultado serológico.**



#### 4.2.2 Proveniência

Os progenitores também podem transmitir o parasita pela via transplacentária, durante a lactação ou através da via fecal-oral, pelo que foram recolhidas informações acerca da sua origem e acessibilidade ao exterior. Cerca de 18% dos proprietários desconhece a proveniência dos seus animais. Na análise que se segue avaliaram-se apenas os animais cuja proveniência era conhecida (tabela 4, gráfico 5).

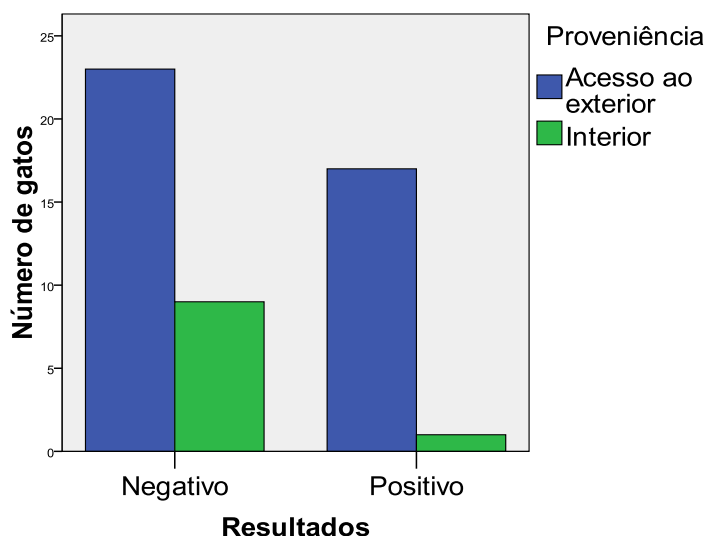
As frequências esperadas em 25% das células são inferiores a 5 o que não permite a aplicação do teste de Qui-quadrado de independência entre o habitat dos progenitores e resultado do teste.

O teste exato de Fisher sugere que não há relação entre o habitat dos progenitores e o diagnóstico da doença ( $p=0,073$ ) (Apêndice II, tabela 4). Todavia, os resultados da tabela 4 e gráfico 5 mostram que a percentagem de seropositivos é superior nos animais de progenitores com acesso ao exterior.

**Tabela 4 - Seroprevalências em função do habitat dos progenitores**

		Progenitores		Total
		Acesso ao exterior	Sem acesso ao exterior	
Seroprevalências (%)				
Resultados	Negativo	23	9	32
	Positivo	17	1	18
	Total	40	10	50

**Gráfico 5 - Relação entre o habitat dos progenitores e o resultado serológico.**



#### 4.2.3 Acesso ao exterior

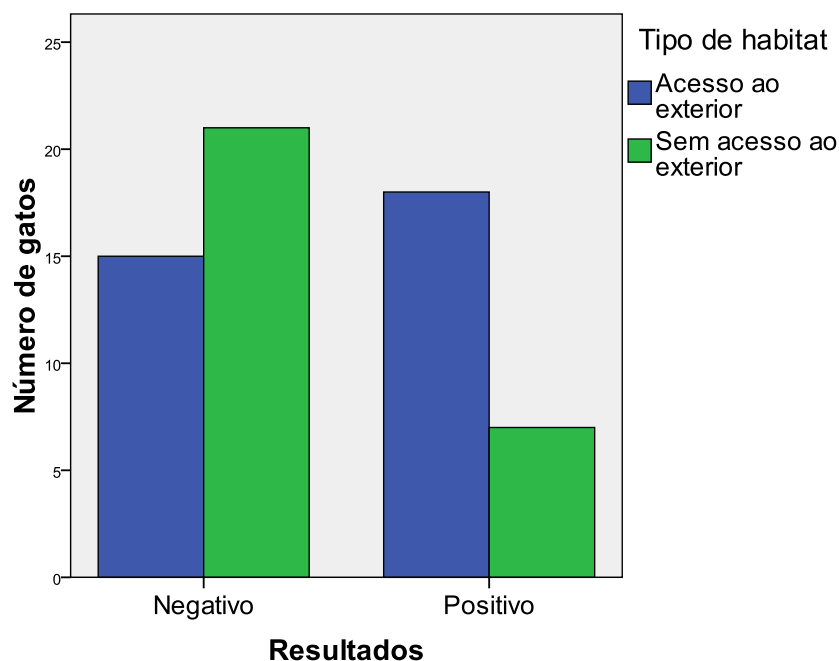
Os gatos considerados com acesso ao exterior foram aqueles que tinham um habitat exclusivamente de exterior ou os que tinham acesso tanto ao interior como ao exterior (vivendas e apartamentos com terraço).

Através da análise pelo teste do Qui-quadrado verificou-se que existe uma associação entre o acesso ao exterior e a seropositividade para a toxoplasmose ( $p=0,019$ ) (Apêndice II, tabela 5). Os gatos com acesso ao exterior apresentam maior seroprevalência do que os de interior (tabela 5, gráfico 6).

**Tabela 5 - Seroprevalências em função do fator acesso ao exterior.**

		Acesso ao		Total
		Exterior	Interior	
Serorevalências (%)				
Resultados	Negativo	54,54 15	25 21	36
	Positivo	18 7	7 25	25
Total		33	28	61

**Gráfico 6 - Relação entre o acesso ao exterior e o resultado serológico.**





#### 4.2.4 Gênero

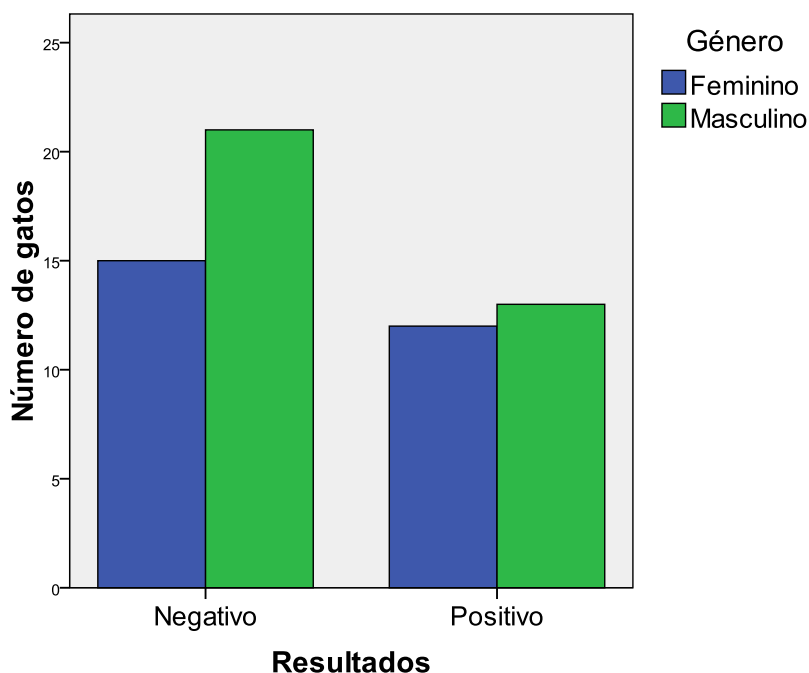
O teste do Qui-quadrado mostrou não existir associação entre o gênero do animal e o resultado do teste serológico ( $p = 0,624$ ) (Apêndice II, tabela 6).

Conforme se observa no gráfico 7, os machos encontram-se em maior número, tanto nos gatos seropositivos como nos seronegativos, mas a prevalência de seropositivos foi maior em animais do gênero feminino (tabela 6). Estes resultados não foram estatisticamente significativos.

**Tabela 6 - Seroprevalências para o fator gênero do paciente.**

		Gênero		Total
		Feminino	Masculino	
Resultados	Seroprevalências (%)	44,44	38,23	
	Negativo	15	21	36
	Positivo	12	13	25
	Total	27	34	61

**Gráfico 7 - Relação entre o gênero e o resultado serológico.**



#### 4.2.5 Tipo de alimentação

Os alimentos como o leite, carne crua e comida caseira foram considerados alimentos de risco e a ração comercial (húmida ou seca) foi considerada alimento sem risco.

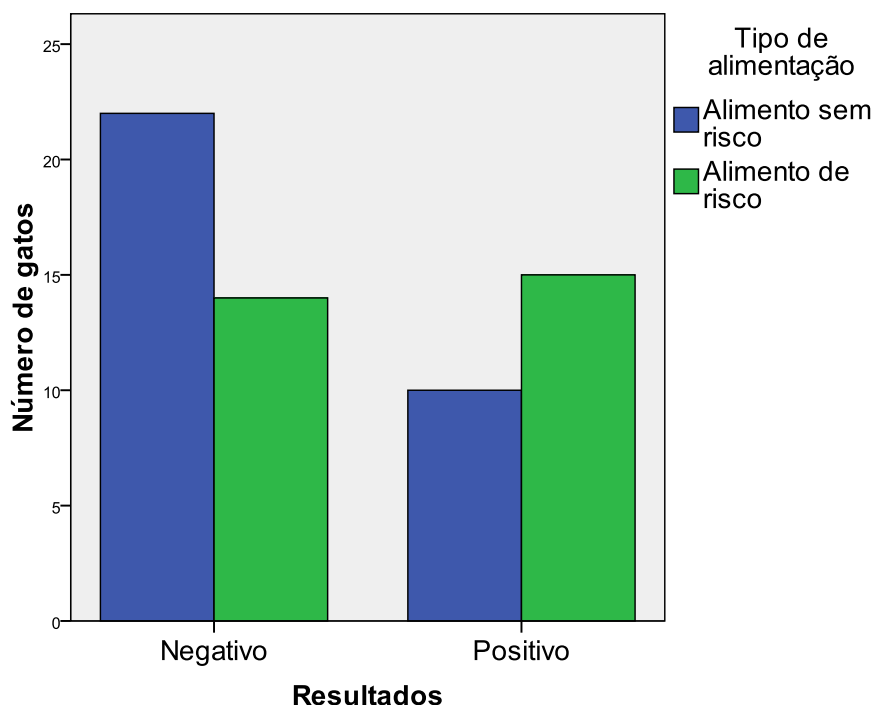
De acordo com os resultados apresentados na tabela 7 e no gráfico 8, os animais com alimentação de risco evidenciam maior número de casos positivos.

Segundo o teste do Qui-quadrado, não parece existir associação estatisticamente significativa entre o teste serológico e o tipo de alimentação ( $p = 0,104$ ) (Apêndice II, tabela 7).

**Tabela 7 - Seroprevalências em função do tipo de alimentação.**

		Tipo de alimentação		Total
		Alimento comercial	Alimento de risco	
Seroprevalências (%)				
Resultados	Negativo	22	14	36
	Positivo	10	15	25
Total		32	29	61

**Gráfico 8 - Relação entre o tipo de alimentação e o resultado serológico.**



#### 4.2.6 Raça

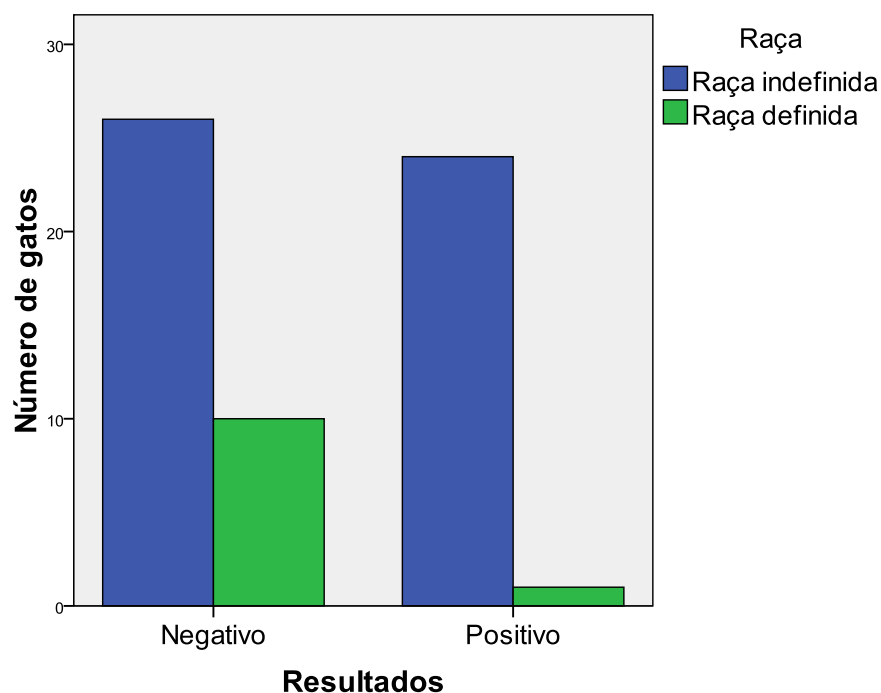
Os animais estudados foram agrupados em dois grupos, os de raça indefinida e os de raça. Os resultados da análise desta variável (tabela 8 e gráfico 9) e demonstram que animais sem raça definida apresentam maior seroprevalência.

Segundo o teste de qui-quadrado de homogeneidade verificou-se que os casos de toxoplasmose se distribuem de forma diferente em relação à raça ( $p=0.018$ ). A análise de resíduos sugere que a raça indefinida é responsável pelas diferenças constatadas uma vez que apresenta elevada prevalência. O teste exato de Fisher sugere, também, esta relação ( $p=0,020$ ) (Apêndice II, tabela 8).

**Tabela 8 - Seroprevalências em função da raça.**

		Raça		Total
		Indefinida	Raça	
Seroprevalências (%)				
Resultados	Negativo	48	9,09	36
	Positivo	26	10	25
	Total	24	1	25
Total		50	11	61

**Gráfico 9 - Relação entre a raça e o resultado serológico.**



## 5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A seroprevalência para a toxoplasmose pode variar entre países e, até, entre regiões de um mesmo país devido ao facto de poderem existir diferentes condições climáticas, regiões ou tipos de território (urbano ou rural) (Afonso *et al.*, 2006b; Sharif *et al.*, 2009). De facto, na literatura, os valores de seroprevalência em gatos descritos em diferentes regiões do mundo variam entre 5,5 % e 97,40%, dependendo da área geográfica e da população em estudo (gatos domésticos, de gatil ou errantes) (Afonso *et al.*, 2006b; Sharif *et al.*, 2009).

A seroprevalência de base clínica para a toxoplasmose encontrada nos gatos dos Concelhos de Oeiras e Cascais foi de 41% (25/61) (gráfico 1). Este valor pode ser considerado elevado e estar relacionado com fatores como a estação do ano (primavera), o elevado número de gatos errantes ou com acesso ao exterior estudados e a utilização de alimentação de risco.

A região de Oeiras e Cascais é uma região urbana e, por isso, a probabilidade de predação e disponibilidade de hospedeiros intermediários é menor do que numa área rural (Meireles *et al.*, 2004; Taylor *et al.*, 2007; Lopes, *et al.*, 2008). No entanto, o presente estudo foi realizado durante a estação da primavera e, o facto de um elevado número de animais ter acesso ao exterior e fazer uma alimentação de risco, pode ter influenciado o valor da seroprevalência. Deste modo, é necessária cautela quando se comparam os resultados aqui obtidos com os de outros estudos que não tiveram o mesmo tipo de população e se realizaram em diferentes épocas do ano.

As condições ambientais, como um clima quente e húmido que se verificou durante o período do estudo (temperatura entre 14,3 °C e 20,3 °C) oferecem um ambiente propício à sobrevivência dos oocistos, permitindo a sua perpetuação no ambiente (Afonso *et al.*, 2006b). A sazonalidade também interfere na disponibilidade das presas (Hermmann *et al.*, 2010).

O habitat e o tipo de alimentação foram outros fatores com influência nos resultados obtidos, uma vez que 54,54% da população estudada era errante ou tinha acesso ao exterior (tabela 5) e 47,5% tinham uma alimentação de risco constituída por alimentos confeccionados pelos donos (tabela 7).

No presente trabalho foram avaliados alguns fatores de risco para a infecção por *T. gondii*, nomeadamente a idade, género, raça, habitat, ascendência (progenitores com ou sem acesso ao exterior) e presença de doenças concomitantes.

Relativamente à idade, os valores de seroprevalência encontrados foram de 19,05%, 50%, 60% e 42,86%, respectivamente, nas faixas etárias dos 6 aos 12 meses, dos 13 aos 35 meses, dos 36 aos 71 meses e com idade superior a 72 meses (tabela 3). A idade não foi identificada como fator de risco ( $p=0,066$ ), mas verificou-se que a seropositividade aumentou até aos 6 anos de idade; isto pode relacionar-se com o facto de o aumento da idade elevar a probabilidade de exposição ao parasita (Jones & Dubey, 2010; Lopes *et al.*, 2011). Diversos estudos descrevem a idade como fator de risco na infecção por *T. gondii* (Gauss, *et al.*, 2003; Salant & Spira, 2004; Miró *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2009; Sharif *et al.*, 2009; Jones & Dubey, 2010; Akhtardanesh *et al.*, 2010; Lopes *et al.*, 2011; Györke, *et al.*, 2011; Kulasena, *et al.*, 2011). Contudo, estes autores, analisaram populações com um número de animais superior ao estudado no presente trabalho (acima de 80 indivíduos).

Quanto à raça, 48% dos gatos seropositivos não tinham raça definida e 9,09% eram animais de raça (tabela 8). Estes valores são estatisticamente significativos ( $p=0,020$ ), indicando não existir predisposição racial. Os gatos de raça indefinida apresentaram maior seropositividade do que gatos de raça, o que se deve ao facto de a raça indefinida ser mais comum nos animais estudados, o que pode ter influenciado os resultados. Outro facto importante é que dos dez gatos de raça estudados, só dois tinham acesso ao exterior e, consequentemente, foram menos expostos a fatores de risco. Na maioria dos trabalhos publicados por outros autores a raça também não teve significado estatístico, à exceção de um estudo que concluiu que gatos siameses e persas apresentavam maior seropositividade do que os restantes (Lopes, *et al.*, 2008).

Relativamente ao género, o feminino apresentou maior seroprevalência (44,44%) do que o masculino (38,2%) (tabela 6). Este fator não apresentou resultados estatisticamente significativos, como descrito na maioria dos trabalhos realizados por outros autores (Gauss, *et al.*, 2003; Lopes *et al.*, 2008; Györke, *et al.*, 2011; Kulasena, *et al.*, 2011). Todavia, Kim *et al.* (2008) e Sharif *et al.* (2009) descrevem o género feminino como fator de risco, respectivamente, na Coreia do Sul e no Irão. O género masculino surge, também, descrito como fator de risco para a infecção por *T. gondii* nos EUA (Vollaire *et al.*, 2005), em Espanha (Miró *et al.*, 2004) e na Coreia do Sul (Lee *et al.*, 2010).

No que respeita ao Habitat os valores de 54,54% de seropositividade em animais com acesso ao exterior e de 25% em gatos de interior (tabela 5) foram estatisticamente significativos ( $p=0,019$ ), conforme descrito, também, por outros autores (Gauss, *et al.*, 2003; Miró *et al.*, 2004; Lopes *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2010; Györke, *et al.*, 2011; Kulasena, *et al.*, 2011). Os gatos com acesso ao exterior apresentam maior risco de predação de aves, ratos e acesso mais fácil a baratas, minhocas e moscas (Bowman *et al.*, 2002). A exposição a gatos com doenças concomitantes que deprimem o sistema imunitário, maior exposição a parasitas como *Isospora felis* (Bowman, 2009) e a ambientes contaminados (águas), aumenta a sua probabilidade de entrar em contacto com o parasita. É, ainda, importante referir que, de entre os gatos com acesso ao exterior, aqueles que nunca foram infetados representam um risco maior para a saúde pública, uma vez que, quando infetados pela primeira vez, irão excretar oocistos durante uma a duas semanas. Um gato que já foi infetado dificilmente volta a re-excretar oocistos e, quando tal acontece, a duração é inferior à da primeira infeção (Elmore *et al.*, 2010).

Quanto ao tipo de alimentação, 31,25% dos seropositivos faziam alimentação comercial e 51,7% alimentação caseira (tabela 7). Este fator não foi considerado estatisticamente significativo ( $p=0,104$ ), provavelmente devido ao facto de, cada vez mais, os animais, domésticos e de rua, serem alimentados com rações comerciais existindo, também, um maior cuidado na confecção e lavagem dos alimentos. Muitos trabalhos científicos consideram o tipo de alimentação um fator de risco mas, mais uma vez, foram estudos realizados com populações superiores a 80 animais (García-Márquez, *et al.*, 2007; Dabritz, *et al.*, 2007; Lopes *et al.*, 2008; Györke, *et al.*, 2011).

Quanto às doenças concomitantes, como infeções por FIV, FeLV e PIF, verificou-se terem sido poucos os gatos testados para estes agentes (7/61), não tendo o número total de animais estudado sido suficiente para uma análise estatística. Poucos são os estudos de prevalência da toxoplasmose que descrevem este fator como estatisticamente significativo e, de entre os que o fazem, apenas a infeção por FIV é referida como concomitante à toxoplasmose (Lopes *et al.*, 2008; Akhtardanesh *et al.*, 2010).

A ascendência dos gatos foi, também, avaliada, embora este fator não tenha, até à data, sido descrito como fator de risco, nem descrito em trabalhos de seroprevalência. No presente trabalho, 42,5% dos seropositivos tinham progenitores com acesso à rua e 10% progenitores de interior (tabela 4). No entanto, não se obtiveram resultados estatisticamente significativos ( $p=0,066$ ) possivelmente devido ao facto de apenas 82% dos proprietários conhecerem a ascendência do seu animal, de os gatos até aos 6 meses terem sido

excluídos devido à interferência de anticorpos maternos e à raridade da re-excreção de oocistos (Bowman *et al.*, 2002).

## 6. CONCLUSÃO

A toxoplasmose é uma importante parasitose uma vez que é uma zoonose relativamente comum. Estima-se que um terço da população mundial humana tenha sido exposta ao parasita (Tenter, *et al.*, 2000). Atualmente, devido à insuficiente informação sobre as medidas de prevenção da infeção tanto em felinos como no Homem, existe um clima de suspeita e rejeição em relação aos gatos, principalmente em mulheres gestantes.

De acordo com um estudo realizado no Canadá, por Shuhaiber *et al.* (2002) os proprietários de gatos, ou profissionais que lidem com animais ou produtos cárneos não apresentam risco acrescido de infeção por *T. gondii*. A principal fonte de transmissão do parasita é o consumo de carne crua ou mal cozinhada. Todavia, muitos prestadores de cuidados de saúde e mulheres gestantes parecem acreditar ser o gato o maior fator de risco.

Mediante o panorama descrito seleccionei este tema com o intuito de contribuir para o conhecimento da seroprevalência da toxoplasmose e respetivos fatores de risco numa pequena região do País. Os objectivos propostos foram a determinação da percentagem de seropositivos, a avaliação, na área geográfica em estudo, de alguns dos fatores de risco descritos na literatura e a identificação das medidas preventivas mais adequadas.

No presente trabalho foi encontrada uma percentagem de seropositividade para a toxoplasmose em gatos de 41%. Apesar do reduzido número de animais estudado, consideramos o valor obtido elevado e pensamos que possa estar associado à estação do ano – primavera – e ao elevado número de animais de exterior e/ou com acesso ao exterior.

A idade não foi identificada como fator de risco, mas observámos um aumento da seropositividade até aos 6 anos de idade, o que se pode ficar a dever ao facto de que, com a idade, aumenta a probabilidade de exposição ao parasita.

A raça também não foi considerada um fator associado à seropositividade. Os gatos de raça indefinida apresentaram maior seroprevalência do que os gatos de raça. Contudo, este resultado pode ser explicado pelo facto de os gatos com raça indefinida se encontrarem mais representados na população estudada e de a maioria dos gatos de raça serem de interior.

Não foi, também, observada qualquer associação entre o género dos animais e os valores de seropositividade encontrados.



O tipo de habitação, nomeadamente o acesso ao exterior, foi o único fator com resultado estatisticamente significativo. Os gatos com acesso ao exterior apresentaram maior seropositividade, provavelmente devido a uma maior exposição ao agente, devido à possibilidade de caçarem, à proximidade com outros animais doentes (com FIV, FeLV e *Isospora felis*), ao contacto com hospedeiros de transporte (baratas, minhocas, moscas) e ambientes contaminados e à alimentação não controlada (Elmore *et al.*, 2010).

O tipo de alimentação não foi estatisticamente significativo, não só porque a alimentação comercial começa a ser a mais comum, como ao maior cuidado que hoje existe na confeção dos alimentos.

A origem dos progenitores também não foi descrita como fator de risco, resultado que pode estar associado ao facto de apenas 82% dos proprietários conhecerem a origem do seu animal.

Os casos de animais com infeção concomitante por agentes como o FIV ou o FeLV, não foram em número suficiente para possibilitar uma análise estatística. Todavia, podemos olhar para estes resultados como uma realidade que deve ser modificada. Poucos são os gatos que são testados para estas doenças quando se verifica a seropositividade para a toxoplasmose.

Na literatura encontram-se descritos mais fatores de risco do que os identificados no presente trabalho. No entanto, o número de animais estudado é, muitas vezes, superior ao aqui descrito. Deste modo, numa perspetiva de continuidade da presente investigação, seria necessário não só aumentar a dimensão da população estudada, como proceder à repetição do teste nos animais seronegativos, num intervalo de tempo nunca inferior a três semanas, por forma a reconhecer eventuais infeções recentes.

Do ponto de vista clínico, a toxoplasmose deveria ser incluída, com mais frequência, na lista de diagnósticos diferenciais em caso de febre, alterações gastrintestinais, neurológicas, respiratórias e imunossupressão. Nos casos de seropositividade para *T. gondii* dever-se-iam, realizar exames complementares com o objetivo de identificar possíveis alterações ainda assintomáticas, com por exemplo, leucopenia, linfopenia, neutropenia, eosinofilia, e aumento de enzimas hepáticas (alanine aminotransferase - ALT - e aspartate aminotransferase - AST) (Barr, 2006; Lappin, 2006).

Com base nos resultados que obtivemos, podemos sugerir a implementação de algumas medidas de prevenção da transmissão, nomeadamente:

- Os gatos devem ter acesso a um ambiente controlado, sem acesso ao exterior, evitando, ainda, a proximidade de animais com doenças infecciosas;
- Realização de testes de rastreio da infeção por FIV e FeLV, não só para o animal seropositivo para a toxoplasmose, como para os que com partilham o mesmo espaço;
- Disponibilizar a todos os gatos uma alimentação comercial ou alimentos bem cozinhados.

Os objetivos principais deste trabalho foram atingidos, tendo sido muito importante realizá-lo, uma vez que nenhum outro havia ainda sido realizado nesta área geográfica. Foi possível identificar a percentagem de seropositivos para a toxoplasmose, os fatores de risco associados à infeção, a população de gatos com maior risco para a saúde pública e as medidas preventivas a adoptar no sentido de evitar a transmissão.

Como trabalho futuro penso que seria importante alargar o presente estudo a outras regiões do País, contribuindo para o aumento do conhecimento sobre a toxoplasmose em Portugal. Seria necessário estudar uma população com maior número de elementos do que os do presente trabalho, para que melhor se pudessem identificar os fatores de risco e informar as populações sobre as medidas de prevenção da transmissão a adoptar.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Afonso, E., Lemoine, M., Poulle, M.L., Ravat, M.C., Romand, S., Thulliez, P., Villena, I., Aubert, D., Rabilloud, M., Riche, B. & Gilot-Fromont, E. (2006). Spatial distribution of soil contamination by *Toxoplasma gondii* in relation to cat defecation behaviour in an urban area. *International Journal for Parasitology*, 38(8-9), 1017-23.
- Afonso, E., Thulliez, P. & Gilot-Fromont E. (2006). Transmission of *Toxoplasma gondii* in an urban population of domestic cats (*Felis catus*). *International Journal for Parasitology*, 36(13), 1373-82.
- Akhtardanesh, B., Ziaali, N., Sharifi, H. & Rezaei, S. (2010). Feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus and *Toxoplasma gondii* in stray and household cats in Kerman-Iran: seroprevalence and correlation with clinical and laboratory findings. *Research in Veterinary Science*, 89(2), 306-10.
- Al-Kappany Y.M., Lapin, M.R., Kwok, O.C., Abu-Elwafa, S.A., Hilali, M. & Dubey, J. P. (2011). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and concurrent *Bartonella spp.*, feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus, and *Dirofilaria immitis* infections in Egyptian cats. *The Journal of Parasitology*, 97(2), 256-8.
- Al-Kappany, Y.M., Rajendran, C., Ferreira, L.R., Kwok, O.C., Abu-Elwafa, S.A., Hilali M., Dubey, J.P. (2010). High prevalence of toxoplasmosis in cats from Egypt: isolation of viable *Toxoplasma gondii*, tissue distribution, and isolate designation. *The Journal of Parasitology*, 96(6), 1115-8.
- Allen, D. (2005). Drugs in small animals. In: D.G. Allen, P.M. Dowling & D.A Smith (Eds). *Handbook of veterinary drugs* (3<sup>rd</sup> ed., pp. 38 e 46) Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Barr, S.C. (2006). Toxoplasmosis. In S.C. Barr & D.D. Bowman (Eds), *Canine and feline infectious diseases and parasitology: the five minute veterinary consult* (pp. 509-510, 512-516) USA: Blackwell publishing.
- Berger-Schoch, A.E., Herrmann, D.C., Schares, G., Müller, N., Bernet, D., Gottstein, B. & Frey, C.F. (2010). Prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* in feline faeces (oocysts) and meat from sheep, cattle and pigs in Switzerland. *Veterinary Parasitology*, 177(3-4), 290-7.

- Berkow, R. & Fletcher, A.J. (1994). Enfermedades infecciosas. In: *El Manual Merck de diagnóstico y terapêutica* (9ªed., pp. 256-258). Españã: Mosby/ Doyma Livros.
- Bowman, D.D. (2009). Diagnostic parasitology. In: *Parasitology for veterinarians* (9ªed., 381-385) USA: Saunders Elsevier.
- Bowman, D.D. (2009). Protozoans. In: *Parasitology for veterinarians* (9ªed., pp. 328,329) USA: Saunders Elsevier.
- Bowman, D.D., Hendrix, C. M., Lindsay, D. S. & Barr S.C. (2002).The Protozoa. In: *Feline clinical parasitology* (pp.3-5, 14-25). Iowa: Blackwell Science Company.
- Canada, N., Meireles, C.S., Rocha, A., Costa, J.M., Erickson, M.W.& Dubey, J.P. (2002). Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from naturally infected aborted bovine fetuses. *The Journal of parasitology*, 88(6), 1247-8.
- Chandler, E.A., Gaskell, C.J. & Gaskell, R.M., (2004). Toxoplasmosis. In: *Feline Medicine and Therapeutics* (3ªed.,pp. 659-667). Oxford: Blackwell Publishing.
- Corrêa, O. (1971).Doenças causadas por protozoários. In: *Doenças parasitárias dos animais domésticos* (3ªed., pp.94-96,98,101) Brasil: Sulina editora.
- Craeye, S., Francart, A., Chabauty, J., Vriendt, V., Gucht, S.V., Leroux, I.& Jongert, E. (2008). Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Belgian house cats. *Veterinary Parasitology*,157(1-2), 128-32.
- Dabritz, H.A. & Conrad, P.A. (2009). Cats and *Toxoplasma gondii*: Implications for Public Health. *Zoonoses and Public Health*, 57(1), 34-52.
- Dabritz, H.A., Gardner, I.A., Miller, M.A., Lappin, M.R., Atwill, E.R., Packham, A.E., Melli, A.C.& Conrad, P.A.(2007).Evaluation of two *Toxoplasma gondii* serologic tests used in a serosurvey of domestic cats in California.*The Journal of Parasitology*, 93(4), 806-16.
- Danner, R.M., Goltz, D.M., Hess, S.C.& Banko, P.C. (2007). Evidence of feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus, and *Toxoplasma gondii* in feral cats on Mauna Kea, Hawaii. *Journal of Wildlife Diseases*, 43(2), 315-8.
- Dorny, P.& Dubey, J.P.(2007). Protozoos. In: F. Rochette (Ed.), *Los parásitos del perro y su control* (p.223). Barcelona:Janssen, Animal Health.

- Duarte, A., Castro, I., Fonseca, I.M. P., Almeida, V., Carvalho, L.M. M., Meireles, J., Fazendeiro, M.I., Tavares, L. & Vaz, Y. (2010). Survey of infectious and parasitic diseases in stray cats at the Lisbon Metropolitan Area, Portugal. *Journal of Feline Medicine Surgery*, 12(6), 441-6.
- Dubey, J.P., Su, C., Cortes, J.A., Sundar, N., Gomez-Marin, J.E., Polo, L.J., Zambrano, L., Mora, L.E., Lora, F., Jimenez, J., Kwok, O.C.H., Shen, S.K., Zhang, X., Nieto, A. & Thulliez, P. (2006). Prevalence of *Toxoplasma gondii* in cats from Colombia, South America and genetic characterization of *T. gondii* isolates. *Veterinary Parasitology*, 141, 42-47.
- Dubey, J.P., Vianna, M.C., Sousa, S., Canada, N., Meireles, S., Costa J.M.C., Marcet, P.L., Lehmann, T., Dardé, M.L. & Thulliez P (2006). Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Portugal. *The Journal of Parasitology*, 92(1), 184-6.
- Elmore, S.A., Jones, J.L., Conrad, P.A., Patton, S., Lindsay, D.S. & Dubey, J.P. (2010). *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. *Trends in Parasitology*, 26(4), 190-6.
- Fernández, F., Ouvifia, G., Clot, E., Guido, R.F. & Codoni, C. (1995). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats in the western part of Great Buenos Aires, Argentina, 1993. *Veterinary Parasitology*, 59(1), 75-9.
- Fortes, E. (2004). Protozoários. In: *Parasitologia Veterinária* (4ª ed., pp. 123-127). São Paulo: Icone editora.
- García-Márquez, L.J., Gutiérrez-Díaz, M.A., Correa, D., Luna-Pastén, H. & Palma, J.M. (2007). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies and the relation to risk factors in cats of Colima, Mexico. *The Journal of Parasitology*, 93(6), 1527-8.
- Gauss, C.B., Almería, S., Ortuño, A., Garcia, F. & Dubey, J.P. (2003). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic cats from Barcelona, Spain. *The Journal of parasitology*, 89(5), 1067-8.
- Györke, A., Opsteegh, M., Mircean, V., Iovu, A. & Cozma, V. (2011). *Toxoplasma gondii* in Romanian household cats: Evaluation of serological tests, epidemiology and risk factors. *Preventive Veterinary Medicine*, 102(4), 321-8.

- Hendrix, C. M. (1998). Common protozoans that infect domestic animals. In: *Diagnostic Veterinary Parasitology* (2<sup>a</sup>ed., pp. 22,23). USA: Mosby.
- Hendrix, C. M. (1998). Parasites of public health importance in veterinary parasitology. In: *Diagnostic Veterinary Parasitology* (2<sup>a</sup>ed., pp. 279, 280). USA: Mosby.
- Hendrix, C. M. (1998). The protozoans. In: *Diagnostic Veterinary Parasitology* (2<sup>a</sup>ed., pp. 15-18). USA: Mosby.
- Herrmann, D.C., Pantchev, N., Vrhovec, M.G., Barutzki, D., Wilking, H., Fröhlich, A., Lüder, C.G., Conraths, F.J.& Schares, G.(2010). Atypical *Toxoplasma gondii* genotypes identified in oocysts shed by cats in Germany. *International Journal for Parasitology*, 140(3), 285-92.
- Hornok, S., Edelhofer, R., Joachim, A., Farkas, R., Berta, K., Répási, A.& Lakatos B (2009). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection of cats in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 56(1), 81-8.
- Hoskins, J. D. & Glaze, M.B. (2001). The eye. In: J.D. Hoskins (Ed.), *Veterinary pediatrics, dogs and cats from birth to six months* (3<sup>a</sup>ed., pp.284-285) Pennsylvania:Saunders.
- Hoskins, J. D. (2001). Liver and pancreas. In: J.D. Hoskins (Ed.), *Veterinary pediatrics, dogs and cats from birth to six months* (3<sup>a</sup>ed., pp.218,) Pennsylvania:Saunders.
- Hoskins, J. D.& Shelton, G.D. (2001). The nervous and neuromuscular systems. In: J.D. Hoskins (Ed.), *Veterinary pediatrics, dogs and cats from birth to six months* (3<sup>a</sup>ed., pp.452) Pennsylvania:Saunders.
- Jesus, D.L.F. (2008). Estudo da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos, ovinos e canídeos da região de Trás-os-montes e Alto Douro. Relatório final de estágio da licenciatura em Biologia da Universidade de Trás-os-montes e Alto Douro.
- Jones, J.L.& Dubey, J.P.(2010). Waterborne toxoplasmosis: recent developments. *Experimental Parasitology*, 124(1), 10-25.
- Jones, Thomas Carlyle, Hunt, Ronald Duncan & King, Norval W. (1997). Diseases due to protozoa. In: *Veterinary pathology* (6<sup>a</sup>ed., pp. 555-561) USA: Lippincott Williams e Wilkins.

- Juvet, F., Lappin, M.R., Brennan, S. & Mooney, C.T. (2010). Prevalence of selected infectious agents in cats in Ireland. *Journal of Feline Medicine Surgery*, 12(6), 476-82.
- Kim, H.Y., Kim, Y.A., Kang, S., Lee, H.S., Rhie, H.G., Ahn, H.J., Nam, H.W. & Lee, S.E. (2008). Prevalence of *Toxoplasma gondii* in stray cats of Gyeonggi-do, Korea. *The Korean Journal of Parasitology*, 46(3), 199-201.
- Kulasena, V.A., Rajapakse, R.P., Dubey, J.P., Dayawansa, P.N. & Premawansa, S. (2011). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cats from Colombo, Sri Lanka. *The Journal of Parasitology*, 97(1), 152.
- Lang, C., Gross, U. & Lüder, C.G. (2007). Subversion of innate and adaptive immune responses by *Toxoplasma gondii*. *Parasitology Research*, 100(2), 191-203.
- Lappin, M.R. (2006). Diagnóstico laboratorial das doenças infecciosas. In: R.M. Nelson & C.G. Couto (Eds.), *Medicina interna de pequenos animais* (3ªed., pp.1193-1202) Rio de Janeiro: Elsevier.
- Lappin, M.R. (2010). Update on the diagnosis and management of *Toxoplasma gondii* infection in cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 25(3), 136-41.
- Lappin, M.R. & Turnwald, G.H. (2004). Microbiology and infectious diseases. In: M.D. Willard & H. Tvedten (Eds.), *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods* (4ªed., pp. 285,346-347) USA: Saunders.
- Lappin, M.R., Greene, C.E., Prestwood, A.K., Dawe, D.L. & Tarleton, R.L. (1989). Diagnosis of recent *Toxoplasma gondii* infection in cats by use of an enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin M. *American Journal of Veterinary Medicine*, 50(9), 1580-5.
- Lee, S.E., Kim, J.Y., Kim, Y.A., Cho, S.H., Ahn, H.J., Woo, H.M., Lee, W.J. & Nam, H.W. (2010). Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in stray and household cats in regions of Seoul, Korea. *The Korean Journal of Parasitology*, 48(3), 267-70.
- Lopes, A.P., Cardoso, L. & Rodrigues, M. (2008). Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from northeastern Portugal. *Veterinary Parasitology*, 155(3-4), 184-9.

- Lopes, A.P., Sargo, R., Rodrigues, M. & Cardoso, L. (2011). High seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild animals from Portugal. *Parasitology of Research*, 108(5), 1163-9.
- Lopes, P., Santos, H., Neto, F., Rodrigues, M., Kwok, O.C.H., Dubey, J.P. & Cardoso, L. (2011). Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in dogs from northeastern Portugal. *The Journal of Parasitology*, 97(3), 418-420.
- Luria, B.J., Levy, J.K., Lappin, M.R., Breitschwerdt, E.B., Legendre, A.M., Hernandez, J.A., Gorman, S.P. & Lee, I.T. (2004). Prevalence of infectious diseases in feral cats in Northern Florida. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 6, 287-296.
- Macrì, G., Sala, M., Linder, A.M., Pettirossi, N. & Scarpulla, M. (2009). Comparison of indirect fluorescent antibody test and modified agglutination test for detecting *Toxoplasma gondii* immunoglobulin G antibodies in dog and cat. *Parasitology Research*, 105, 35-40.
- Mancianti, F., Nardoni, S., Ariti, G., Parlanti, D., Giuliani, G. & Papini, R.A. (2009). Cross-sectional survey of *Toxoplasma gondii* infection in colony cats from urban Florence (Italy). *Journal of Feline Medicine Surgery*, 12(4), 351-4.
- Meireles, L.R., Galisteo, A.J. Jr., Pompeu, E. & Andrade, H.F. Jr. (2004). *Toxoplasma gondii* spreading in an urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs. *Tropical Medicine & International Health*, 9(8), 876-81.
- Miró, G., Montoya, A., Jiménez, S., Frisuelos, C., Mateo, M. & Fuentes, I. (2004). Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. *Veterinary Parasitology*, 126(3), 249-255.
- Omata, Y., Oikawa, H., Kanda, M., Mikazuki, K., Dilenzo, C., Claveria, F.G., Takahashi, M., Igarashi, I., Saito, A. & Suzuki, N. (1994). Transfer of antibodies to kittens from mother cats chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*, 52(3-4), 211-218.
- Ozkan, A.T., Celebi, B., Babür, C., Lucio-Forster, A., Bowman, D.D. & Lindsay, D.S. (2008). Investigation of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in cats of the Ankara region of Turkey Using the Sabin-Feldman dye test and an indirect fluorescent antibody test. *The Journal of Parasitology*, 94(4), 817-20.



- Pearson, R. D. (2009). Toxoplasmosis. In: R. K. Albert, G. D. Braunstein, S. Cohen, E.P. Frenkel, S.L. Hendrix, R.M.A. Hirschfeld, *et al.* (Eds.), *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy* (17<sup>th</sup>ed, pp.256-8) New York : Merck Sharp.
- Pena, H.F., Soares, R.M., Amaku, M., Dubey, J.P.& Gennari, S.M.(2006). *Toxoplasma gondii* infection in cats from São Paulo state, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. *Research in Veterinary Science*, 81(1), 58-67.
- Powell, C.C., Brewer, M. & Lappin, M.R.(2001). Detection of *Toxoplasma gondii* in the milk of experimentally infected lactating cats. *Veterinary Parasitology*, 102(1-2), 29-33.
- Prandota, J.(2010) Neuropathological changes and clinical features of autism spectrum disorder participants are similar to that reported in congenital and chronic cerebral toxoplasmosis in humans and mice. *Research in Autism Spectrum Disorders*. 4(2), 103-118.
- Rodgers, S.J. & Baldwin, C.A. (1990). A serologic survey of Oklahoma cats for antibodies to feline immunodeficiency virus, coronavirus, and *Toxoplasma gondii* and for antigen to feline leukemia virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2, 180-183.
- Rosa, L.D., Moura, A.B., Trevisani, N., Medeiros, A.P., Sartor, A.A., Souza, A.P.& Bellato, V. (2010). *Toxoplasma gondii* antibodies on domiciled cats from Lages municipality, Santa Catarina State, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 19(4), 268-9.
- Salant, H.& Spira, D.T.(2004). A cross-sectional survey of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Jerusalem cats. *Veterinary Parasitology*, 124(3-4), 167-77.
- Sharif, M., Daryani, A., Nasrolahei, M.& Ziapour, S.P. (2009). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray cats in Sari, northern Iran. *Tropical Animal Health Production*, 41 (2), 183-7.
- Shuhaiber, S., Koren, G., Boskovic, R., Einarson, T.R., Soldin, O.P.& Einarson, A.(2003). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among veterinary staff in Ontario, Canada (2002): implications for teratogenic risk. *BMC Infectious Diseases*, 23(3), 8.

- Sousa, S., Ajzenberg, D., Canada, N., Freire, L., Costa, J.M., Dardé, M.L., Thulliez, P. & Dubey, J.P. (2006). Biologic and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs from Portugal. *Veterinary Parasitology*, 135(2), 133-6.
- Sousa, S., Canada, N., Costa, J.M. & Dardé, M.L. (2010). Serotyping of naturally *Toxoplasma gondii* infected meat-producing animals. *Veterinary Parasitology*, 169(1-2), 24-8.
- Sousa, S., Thompson, G., Silva, E., Freire, L., Lopes, D., Costa J.M.C., Castro, A., Carvalheira, J. & Canada, N. (2009). Determination of the more adequate modified agglutination test cut-off for serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in sheep. *Zoonoses and Public Health*, 56(5), 252-6.
- Stiles, J., Prade, R. & Greene, C. (1996). Detection of *Toxoplasma gondii* in feline and canine biological samples by use of the polymerase chain reaction. *American Journal of Veterinary Medicine*, 57(3), 264-7.
- Stites, D.P., Rodgers, C. & Folds, J.D. (1997). Clinical laboratory methods for detection of antigens and antibodies. In: D.P. Stites, A.I. Terr & T.G. Parslow (Eds.), *Medical Immunology* (9<sup>th</sup> ed., pp 239-240). USA: Appleton & Lange.
- Su, C., Zhang, X., Dubey, J.P. (2006). Genotyping of *Toxoplasma gondii* by multilocus PCR-RFLP markers: a high resolution and simple method for identification of parasites. *International Journal for Parasitology*, 36, 841-848.
- Taylor, M.A., Coop, R.L. & Wall, R.L. (2007). Parasites of dogs and cats. In: *Veterinary parasitology* (3<sup>rd</sup> ed., pp. 386, 431-432) USA: Blackwell publishing.
- Taylor, M.A., Coop, R.L. & Wall, R.L. (2007). The epidemiology of parasitic diseases. In: *Veterinary parasitology* (3<sup>rd</sup> ed., pp. 767-768,) USA: Blackwell publishing.
- Tenter, A.M., Heckeroth, A.R. & Weiss, L. M. (2000). *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*, 30(12-13), 1217-1258.
- Tizard, I.R. (2004). Immunodiagnostic techniques. In I.R. Tizard (Ed.). *Veterinary Immunology: an introduction* (7<sup>th</sup> ed., pp 183, 184). USA : Saunders.
- Toxoplasmosis in cats (brochure). Cornell University College of Veterinary Medicine. Acedido em 27 de dezembro em 2010 em [http://www.vet.cornell.edu/FHC/healthinfo/brochure\\_toxo.cfm](http://www.vet.cornell.edu/FHC/healthinfo/brochure_toxo.cfm).

- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M.& Jennings, F.W. (1998). Protozoologia veterinária. In: Parasitologia Veterinária (2ªed.,pp.204-207). Brasil: Guanabara koogan.
- Vollaire, M.R., Radecki, S.V.& Lappin, M.R. (2005). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in clinically ill cats in the United States. *American Journal of Veterinary Research*,66(5), 874-7
- Vyas, A., Kim, S.K.& Sapolsky, R.M.(2007). The effects of toxoplasma infection on rodent behavior are dependent on dose of the stimulus. *Neuroscience*,148(2), 342-8.
- Vyas, A., Kim, S.K., Giacomini, N., Boothroyd, J.C.& Sapolsky, R.M.(2010). Behavioral changes induced by Toxoplasma infection of rodents are highly specific to aversion of cat odors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, 104 (15), 6442-7.
- Zhang, H., Zhou, D.H., Zhou, P., Lun, Z.R., Chen, X.G., Lin, R.Q., Yuan, Z.G. &Zhu, X.Q. (2009). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in stray and household cats in Guangzhou, China. *Zoonoses Public Health*,56(9-10), 502-5.

## Apêndice I - Inquérito realizado

### O QUE É A TOXOPLASMOSE?

A **toxoplasmose** é uma doença causada por um parasita que se denomina por o *Toxoplasma gondii*.

Pode afectar o cão, o gato, a ave, o suíno, o cavalo, os ruminantes, bem como o homem, mas o **gato** é o principal hospedeiro. Em raras ocasiões, pode transmitir este parasita através do contacto directo com as suas fezes. Outras vias de infecção são: a carne e leite mal cozinhados, água contaminada, verduras mal lavadas ou por transmissão através da placenta. O gato e o homem raramente desenvolvem a doença clínica; a sua manifestação, como entidade clínica ou nosológica, depende normalmente do aparecimento de outras doenças concomitantes, em especial aquelas que deprimam o sistema imunitário.

Este inquérito encontra-se inserido num estudo para o desenvolvimento de uma tese de mestrado, inserida no programa curricular de Medicina Veterinária pela **Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias** (Lisboa).

Este estudo pretende contribuir para o conhecimento da epidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii* nos gatos.

Para participar, pedimos-lhe o preenchimento deste **inquérito** e a recolha de uma **pequena amostra de sangue** (2ml) do seu gato para se poder efectuar o teste da Toxoplasmose que se realizará através da mensuração de anticorpos.

O teste não faz o diagnóstico da infecção apenas apresenta a probabilidade de se encontrar assintomaticamente infectado, uma vez que existe a possibilidade de falsos negativos (animal infectado que não produz anticorpos) ou falsos positivos (animal que entrou em contacto com o parasita mas não está infectado).

Todos os dados fornecidos por este inquérito são confidenciais e os seus resultados ser-lhe-ão fornecidos assim o estudo estiver concluído, ainda durante este ano corrente.

Obrigada pela sua participação!

Sandra de Sousa Ferreira Dias

Medicina Veterinária da ULHT

Aluna nº 2500658 (6ºano)

1. Nome do proprietário: \_\_\_\_\_
2. Área de residência: \_\_\_\_\_  
Freguesia: \_\_\_\_\_ Concelho: \_\_\_\_\_
3. Tipo de habitação (assinale com um x):  
☐ Apartamento    ☐ Vivenda
4. Nome do paciente: \_\_\_\_\_
5. Idade do paciente: \_\_\_\_\_
6. Raça: \_\_\_\_\_
7. Sexo do paciente (assinale com um x):  
☐ Feminino    ☐ Masculino
8. O seu animal é castrado (assinale com um x):  
☐ Sim    ☐ Não
9. Habitat do animal (assinale com um x):  
☐ Gato de exterior    ☐ Gato de interior com pais de interior  
☐ Gato de interior com pais de rua    ☐ Gato de interior com acesso ao exterior
10. Tipo de Alimentação (assinale com um x as opções que se adequam):  
☐ Lata  
☐ Ração seca  
☐ Comida caseira  
☐ Carne crua/mal passada de \_\_\_\_\_ (tipo de animal)  
☐ Leite  
☐ Outros \_\_\_\_\_
11. Existe a possibilidade do seu animal ter contacto com roedores e aves no seu habitat? (assinale com um x):  
☐ Sim    ☐ Não    ☐ Não sei
12. O seu animal tem alguma destas doenças diagnosticada? (assinale com um x):  
☐ Imunodeficiência Felina (FIV)  
☐ Leucemia Felina (FELV)  
☐ Peritonite Infeciosa felina (PIF)  
☐ Não foi realizado o despiste das doenças acima descritas  
☐ Outras. Quais? \_\_\_\_\_

## Apêndice II - Quadros estatísticos

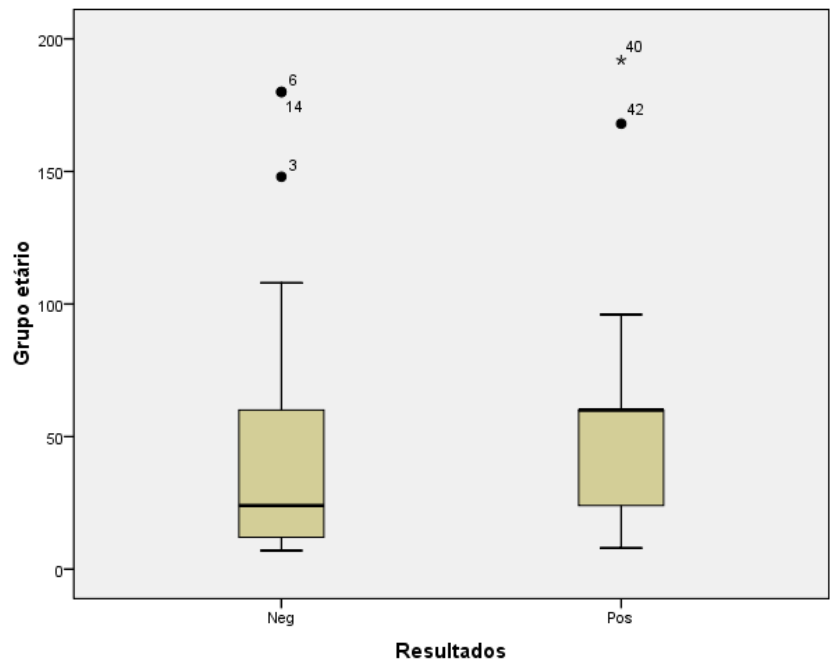
Tabela e gráfico efetuados para análise estatística da relação entre a idade e o teste serológico de toxoplasmose.

**Tabela 1 - Medidas de tendência central e de dispersão para a idade**

Relação da idade com o teste serológico de <i>T.gondii</i>			Estatística	Erro padrão
<b>Resultado</b>	Média		3,7014	,66730
<b>Negativo</b>	95% Intervalo de confiança para a média	Limite inferior	2,3467	
		Limite superior	5,0561	
	Mediana		2,0000	
	Variância		16,030	
	Desvio padrão		4,00379	
	Mínimo		,58	
	Máximo		15,00	
	Amplitude		14,42	
<b>Resultado</b>	Média		4,7067	,74568
<b>Positivo</b>	95% Intervalo de confiança para a média	Limite inferior	3,1677	
		Limite superior	6,2457	
	Mediana		5,0000	
	Variância		13,901	
	Desvio padrão		3,72842	
	Mínimo		,67	
	Máximo		16,00	
	Amplitude		15,33	

**A mediana das idades dos animais seropositivos é 5 anos, enquanto, que dos seronegativos é de 2 anos.**

**Figura 1 - Box-plot para a idade**



O Box-plot indica que a mediana é superior nos resultados positivos à toxoplasmose em relação aos negativos.

**Tabela 2 - Teste de Shapiro-Wilk para a idade**

Teste de Shapiro-Wilk							
	Resultado	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	s	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Grupo etário	Negativo	,236	36	,000	,740	36	,000
	Positivo	,229	25	,002	,811	25	,000

**As idades não seguem distribuição normal ( $p=0,000$ ).**

**Tabela 3 - Teste de Mann-Whitney para a idade**

Teste de Mann-Whitney	
	Idade
Mann-Whitney U	326,500
Wilcoxon W	992,500
Z	-1,838
Asymp. Sig. (2-tailed)	,066

**O teste de Mann-Whitney sugere que não existem diferenças estatisticamente significativas entre as idades ( $p=0,066$ ).**

Tabela efetuada para análise estatística da relação entre a proveniência e o teste serológico de toxoplasmose.

**Tabela 4 - Teste de Fisher para o habitat dos progenitores.**

Teste exato de Fisher					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2- sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson	3,668 <sup>a</sup>	1	,055		
Chi-Square					
Continuity	2,393	1	,122		
Correction <sup>b</sup>					
Likelihood	4,292	1	,038		
Ratio					
Fisher's				,073	,055
Exact Test					
N of Valid	50				
Cases					

**O teste exato de Fisher sugere que não há relação entre a proveniência e o resultado do teste ( $p=0,073$ ).**



Tabela efetuada para análise estatística da relação entre o acesso ao exterior e o teste serológico de toxoplasmose.

**Tabela 5 - Teste de Qui-quadrado para o acesso ao exterior.**

Teste Qui-quadrado				
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided) Exact Sig. (1-sided)
Pearson	5,467 <sup>a</sup>	1	,019	
Chi-Square				
Continuity	4,314	1	,038	
Correction <sup>b</sup>				
Likelihood	5,604	1	,018	
Ratio				
Fisher's				,036 ,018
Exact Test				
N of Valid	61			
Cases				

**Verificou-se que pelo teste do Qui-quadrado que existe uma associação entre o acesso ao exterior e o teste serológico de toxoplasmose. ( $p=0,019$ ).**

Tabela efetuada para análise estatística da relação entre o género e o teste serológico de toxoplasmose.

**Tabela 6 - Teste do Qui-quadrado para o género**

Teste do Qui-quadrado				
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided) Exact Sig. (1-sided)
Pearson	,240 <sup>a</sup>	1	,624	
Chi-Square				
Continuity	,052	1	,820	
Correction <sup>b</sup>				
Likelihood	,240	1	,624	
Ratio				
Fisher's				,794 ,409
Exact Test				
N of Valid	61			
Cases				

O teste de Qui-quadrado indica que não existe associação entre o contacto com o exterior e o resultado do teste ( $p=0,624$ ).

Tabela efetuada para análise estatística da relação entre o tipo de alimentação e o teste serológico de toxoplasmose.

**Tabela 7 - Teste do Qui-quadrado para o tipo de alimentação.**

Teste de Qui-quadrado				
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided) Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,637 <sup>a</sup>	1	,104	
Continuity Correction <sup>b</sup>	1,858	1	,173	
Likelihood Ratio	2,652	1	,103	
Fisher's Exact Test				,124 ,086
N of Valid Cases	61			

**Os dados sugerem que não há associação estatisticamente significativa entre o resultado do teste para o parasita e o tipo de alimentação ( $p=0,104$ ).**

Tabela efetuada para análise estatística da relação entre a raça e o teste serológico de toxoplasmose.

**Tabela 8 - Teste exato de Fisher para a raça.**

Teste exato de Fisher					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2- sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson	5,644 <sup>a</sup>	1	,018		
Chi-Square					
Continuity	4,150	1	,042		
Correction <sup>b</sup>					
Likelihood	6,633	1	,010		
Ratio					
Fisher's				,020	,017
Exact Test					
N of Valid	61				
Cases					

**O teste exato de Fisher verifica que existe relação entre a raça e o resultado serológico (p=0,020).**

### Apêndice III - Listagem dos animais estudados

Nº de animal	Área	Idade (meses)	Raça	Sexo	Castrado	Proveniência	Habitat	Alimentação	Predação	Doenças (FIV e Felv)	Procedimentos	Resultado
1	Oeiras	24	Persa	F	N	I	I	AC	N	n/desp	Castração	Neg
2	Oeiras	12	SRD	M	N	E	I	AC	N	n/desp	Castração	Neg
3	Oeiras	148	Persa	M	S	I	I/E	AR	S	n/desp	SG	Neg
4	Oeiras	12	SRD	M	N	I	I/E	AR	S	n/desp	Castração	Neg
5	Oeiras	12	SRD	F	S	E	I	AR	N	n/desp	Vacinação	Neg
6	Cascais	180	SRD	M	N	E	I	AC	N	n/desp	Castração	Neg
7	Oeiras	9	Azul charteux	F	N	E	I	AR	N	n/desp	Vacinação	Neg
8	Oeiras	12	Persa	F	S	E	I	AC	N	n/desp	Vacinação	Neg
9	Oeiras	12	SRD	M	N	E	I	AC	N	n/desp	Castração	Neg
10	Oeiras	8	SRD	M	N	E	I	AC	N	n/desp	Castração	Pos
11	Oeiras	36	SRD	F	S	E	I	AR	N	n/desp	Vacinação	Pos
12	Oeiras	12	SRD	M	S	I	I/E	AC	S	Felv+	Vacinação	Neg
13	Carcavelos	84	Persa	M	S	E	I	AC	N	n/desp	Vacinação	Neg
14	Carcavelos	48	Persa	F	S	E	I	AC	N	n/desp	Vacinação	Neg
15	Oeiras	82	SRD	F	S	Desconhecida	I/E	AC	S	n/desp	Vacinação	Neg
16	Oeiras	12	SRD	M	N	E	I	AC	N	n/desp	Castração	Pos
17	Oeiras	192	SRD	F	S	Desconhecida	I/E	AC	S	n/desp	SU	Pos
18	Oeiras	24	SRD	M	S	Desconhecida	I/E	AC	S	n/desp	SU	Pos
19	Oeiras	180	SRD	F	S	Desconhecida	I	AC	N	n/desp	RPC	Neg
20	Parade	168	SRD	F	S	Desconhecida	I	AC	N	n/desp	PC	Pos
21	Carcavelos	96	SRD	M	S	E	I	AR	S	n/desp	Vacinação	Pos
22	Oeiras	12	SRD	M	N	E	I	AC	N	n/desp	Castração	Neg
23	Oeiras	108	SRD	F	S	E	I	AC	N	n/desp	SD	Neg
24	Oeiras	60	SRD	M	S	Desconhecida	I/E	AC	S	n/desp	Vacinação	Pos
25	Oeiras	60	SRD	F	S	Desconhecida	I/E	AC	S	n/desp	Vacinação	Pos
26	Cascais	48	Main Coon	M	S	I	I	AC	N	n/desp	Tosquia	Neg
27	Oeiras	12	SRD	M	N	E	E	AR	S	n/desp	Castração	Pos
28	Carcavelos	36	SRD	M	S	I	I/E	AC	S	n/desp	SU	Pos
29	Oeiras	12	SRD	M	N	Desconhecida	I	AC	S	n/desp	Castração	Neg
30	Oeiras	12	SRD	M	N	Desconhecida	I	AC	N	n/desp	Castração	Neg
31	Cascais	9	Persa	M	S	I	I	AC	N	n/desp	Vacinação	Neg

32	Carcavelos	36	SRD	M	S	E	I/E	AC	S	FIV e Felv+	Vacinação	Neg
33	Oeiras	36	SRD	M	N	E	E	AR	S	n/desp	Castração	Neg
34	Oeiras	12	SRD	F	N	E	E	AR	S	n/desp	Castração	Neg
35	Oeiras	36	SRD	F	N	E	E	AR	S	n/desp	Castração	Pos
36	Oeiras	36	SRD	F	N	E	E	AR	S	n/desp	Castração	Neg
37	Oeiras	36	SRD	F	N	E	E	AR	S	n/desp	Castração	Pos
38	Oeiras	84	SRD	F	N	E	E	AR	S	n/desp	Castração	Neg
39	Oeiras	60	SRD	F	N	E	E	AR	S	n/desp	Atropelamento e SN	Pos
40	Oeiras	72	Persa	M	S	Desconhecida	I	AR	N	n/desp	SU	Pos
41	Oeiras	96	SRD	F	N	E	E	AR	S	n/desp	R/PC	Pos
42	Carcavelos	24	SRD	F	N	Desconhecida	I	AC	N	n/desp	Castração	Pos
43	Oeiras	60	SRD	F	N	E	E	AR	S	n/desp	R/PC	Neg
44	Oeiras	36	SRD	M	N	E	E	AR	S	n/desp	Castração	Neg
45	Oeiras	36	SRD	F	N	E	E	AR	S	n/desp	Castração	Pos
46	Oeiras	60	SRD	F	S	E	I/E	AR	S	Felv+	Vacinação	Neg
47	Oeiras	60	SRD	M	S	E	I/E	AR	S	Felv+	Vacinação	Pos
48	Cacém	12	SRD	M	N	E	I	AC	N	n/desp	Castração	Neg
49	Oeiras	7	Esfinge	F	N	I	I	AC	N	Despistado-	Castração	Neg
50	Oeiras	12	SRD	M	N	I	I	AC	N	n/desp	Castração	Neg
51	Oeiras	108	SRD	M	S	E	I	AR	N	Despistado-	Vacinação	Neg
52	Oeiras	60	SRD	M	N	E	E	AR	S	n/desp	Febre e SG	Pos
53	Oeiras	72	SRD	M	N	E	E	AR	S	n/desp	Atropelamento e castração	Pos
54	Oeiras	60	SRD	M	N	E	E	AR	S	n/desp	Castração	Pos
55	Oeiras	12	SRD	M	N	E	I	AR	N	n/desp	Castração	Neg
56	Carcavelos	12	SRD	M	N	I	E	AR	S	n/desp	Castração	Neg
57	Oeiras	24	SRD	F	N	E	I/E	AC	S	n/desp	Castração	Neg
58	Oeiras	24	SRD	F	N	E	I/E	AC	S	FIV+	Vacinação	Pos
59	Oeiras	12	SRD	M	N	E	I/E	AR	N	n/desp	Castração	Pos
60	Oeiras	60	SRD	F	N	E	E	AR	S	n/desp	R/PC	Pos
61	Oeiras	24	Bosque Noruega	M	S	E	E	AC	N	n/desp	SO	Neg

**Legenda:** SRD – sem raça definida; F – Feminino; M - masculino; S – Sim; N – Não; I – de interior; E – acesso ao exterior/ ou de exterior; I/E – acesso ao exterior e interior; AC – Alimento comercial; AR – Alimento de risco; n/desp – Não despistado; Despistado - o animal é negativo a FIV e Felv; SO – lesões oftalmológicas; R – lesões no sistema reprodutor; SG – sintomas do sistema gastrointestinal; SU – doença do sistema urinário; SN – sintomas neurológicos; SD – sintomas dermatológicos e PC – procedimento cirúrgico.